

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1905

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le Jeudi 23 Février 1905 à 1 heure

ANALYSE SPECTRALE DES URINES

NORMALES OU PATHOLOGIQUES

SENSITO-COLORIMÉTRIE

Avec 38 Schémas Spectraux en 4 Planches

PAR

Henri PARMENTIER

Président : M. POUCHET,

Juges { MM. HUTINEL,
VAQUEZ,
RICHAUD,

} *Professeurs.*

} *Agrégés.*

PARIS

LIBRAIRIE MÉDICALE ET SCIENTIFIQUE

Jules ROUSSET

1, rue Casimir-Delavigne et 12 rue Monsieur-le-Prince

1905

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen.....		M. DEBOVE.
Professeurs.....		MM.
Anatomie		POIRIER.
Physiologie		CH. RICHET.
Physique médicale		GARIEL.
Chimie organique et chimie minérale.....		GAUTIER.
Histoire naturelle médicale.....		BLANCHARD.
Pathologie et thérapeutique générales		BOUCHARD.
Pathologie médicale.....	{	HUTINEL.
		BRISSAUD.
Pathologie chirurgicale.....		LANNELONGUE.
Anatomie pathologique		CORNIL.
Histologie.....		MATHIAS DUVAL
Opérations et appareils.....		RECLUS.
Pharmacologie et matière médicale.....		POUCHET.
Thérapeutique.....		GILBERT
Hygiène.....		CHANTEMESSE.
Médecine légale.....		BROUARDEL.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.....		DEJERINE.
Pathologie comparée et expérimentale.....		ROGER.
	{	DEBOVE.
		LANDOUZY.
Clinique médicale.....		HAYEM.
	{	DIEULAFOY.
		GRANCHER
Clinique des maladies des enfants.....		GAUCHER.
Clinique des maladies syphilitiques.....		
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale.....		JOFFROY.
Clinique des maladies nerveuses.....		RAYMOND
	{	TILLAUX.
		LE DENTU.
Clinique chirurgicale.....		TERRIER.
	{	BERGER.
		D ^r de LAPERSONNE.
Clinique ophtalmologique.....		GUYON.
Clinique des voies urinaires.....		PINARD.
Clinique d'accouchements.....		BUDIN.
Clinique gynécologique.....		POZZI
Clinique chirurgicale infantile.....		KIRMISSON.

Agrévés en exercice :

MM.	MM.	MM.	MM.
AUVRAY.	DUPRÉ.	LEGUEU.	RENON.
BALTHAZARD.	DUVAL.	LEPAGE.	RICHAUD.
BEZANÇON.	FAURE.	MARION.	RIEFFEL, chef
BRANCA.	GOSSET.	MACAIGNE.	des trav. anat.
BRINDEAU	GOUGET.	MAILLARD.	TEISSIER.
BROCA André.	GUIART.	MARION.	THIROLOIX.
CARNOT.	JEANSELME.	MAUCLAIRE.	VAQUEZ.
CLAUDE	LABBE.	MERY.	WALLICH.
CUNEO.	LANGLOIS.	MORESTIN.	
DEMEIJN.	LAUNOIS.	POTOCKI.	
DESGREZ.	LEGRY.	PROUST.	

Chef des Travaux anatomiques : M. RIEFFEL.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A TOUS CEUX QUI ONT CONTRIBUÉ
A MON DÉVELOPPEMENT INTELLECTUEL ET MORAL

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR POUCHET

Membre de l'Académie de Médecine
Chevalier de la Légion d'honneur

INTRODUCTION

Parmi les procédés qui nous servent à reconnaître les composés physiologiques ou pathologiques d'un organisme, l'analyse spectrale doit figurer en bon rang. Dans la plupart des cas, en effet, sa sensibilité n'est atteinte par aucune autre méthode : ne savons-nous pas que le spectroscope nous permet de déceler la si minime quantité de matière colorante contenue dans 7 *globules sanguins*. C'est principalement l'étude des spectres *d'absorption* qui doit nous intéresser en physiologie. Beaucoup de nos humeurs sont colorées, d'autres présentent des réactions colorées agissant sur le spectre et il est inutile de rappeler l'importance considérable qu'a acquise en Médecine légale l'analyse spectrale du sang. Enfin, les phénomènes d'absorption peuvent servir, non seulement à reconnaître, mais aussi à doser certaines substances ; ils présentent, dans tous les cas, le grand avantage de n'exiger que peu de matière et de respecter l'intégrité de cette dernière. Cette considération n'est pas négligeable, beaucoup de produits physiologiques étant d'une préparation longue, difficile et coûteuse.

Nous avons trouvé intéressant de contribuer à l'étude de la spectroscopie urinaire, ayant fait depuis

plusieurs années des recherches sur l'analyse spectrale en général.

Voici le plan que nous nous sommes proposé de suivre :

Étude succincte des spectres d'émission fournis par les composés salins qui peuvent se rencontrer dans les urines. Nous examinerons ensuite les phénomènes d'absorption que peuvent présenter les urines normales ou pathologiques, les composés introduits dans l'organisme en vue d'un but thérapeutique ou expérimental et éliminés par le rein ; nous terminerons en présentant un appareil imaginé par nous et qui, pour n'être pas spectral, trouve sa place dans une étude où il est question du dosage de substances colorées.

ANALYSE SPECTRALE DES URINES

NORMALES OU PATHOLOGIQUES

SENSITO-COLORIMÉTRIE

CHAPITRE PREMIER

A. — Généralités. — Spectres d'émission.

Avant d'aborder l'étude de notre sujet, il nous semble nécessaire de rappeler brièvement quelques notions générales de spectroscopie. L'on sait qu'un rayon de lumière blanche, traversant un prisme, est dévié vers la base de ce prisme et décomposé en sept radiations suivantes :

Rouge, orangé, jaune, vert, bleu, indigo, violet.

En deçà et au-delà de ce spectre visible, s'étendent deux régions invisibles pour notre rétine, *l'infra-rouge et l'ultra-violet.*

Dans ce travail, nous ne nous occuperons que du spectre visible.

Si nous examinons au moyen du spectroscope la flamme d'un bec Bunsen, dans laquelle nous avons introduit une parcelle de chlorure de sodium, nous apercevons une double raie jaune très brillante se détachant sur un fond sombre. Il en serait de même

avec tous les sels de sodium. Un composé du lithium nous montrerait une superbe raie rouge. Ces phénomènes spectraux sont caractéristiques d'un métal donné. Il se produisent toutes les fois qu'on examine, à travers un prisme, le métal ou l'un de ses composés portés à l'état de vapeur, soit par la chaleur d'une flamme, soit par la haute température que dégage l'étincelle électrique : ce sont des spectres d'émission.

Recevons, au contraire, sur la fente du spectroscope, un rayon de lumière blanche produit par le manchon incandescent d'une lampe *Auer*, par exemple : nous voyons la succession des 7 radiations simples dans l'ordre indiqué plus haut. Si nous plaçons entre la source lumineuse et le spectroscope une petite cuve contenant une solution diluée de Bleu de Méthylène nous observons un phénomène nouveau : une partie du rouge se trouve remplacée par une bande noire ; à cela près, le reste du spectre n'a pas changé d'aspect. Si nous augmentons la concentration ou l'épaisseur de la dissolution, nous voyons la bande obscure s'assombrir et s'élargir peu à peu.

A un certain moment, pour une concentration ou une épaisseur donnée, une deuxième bande obscure apparaît dans le jaune. L'interposition de la solution colorée a donc produit une *absorption* d'une partie du spectre lumineux.

Opérons de même avec une solution d'oxyhémoglobine : nous constatons la présence de deux bandes obscures. De même que pour le bleu de Méthylène, la présence de ces deux bandes, bien repérées dans leurs limites respectives, est caracté-

ristique de la matière colorante du sang : ces phénomènes sont des spectres d'absorption. Au point de vue qui nous occupe les spectres d'émission, les spectres métalliques ont une minime importance ; aussi leur étude sera-t-elle rapide.

DISPOSITIF D'EXPÉRIENCE. — SPECTROSCOPE. — Le spectroscopie qui nous a servi dans ces recherches est du type grand modèle de *Cornu*, construit par *Ph. Pellin*. Il comporte deux prismes *Janssens-Amici* à vision directe formés chacun de prismes de flint-glass alternant avec des prismes de crown. L'un de ces prismes peut être enlevé, lorsque l'on désire plus de luminosité et moins de dispersion.

Pour les spectres d'émission, nous nous sommes toujours servi du double prisme ; pour l'absorption, d'un seul. Dans l'un et l'autre cas la raie D du sodium est nettement dédoublée. La graduation de l'échelle des longueurs d'onde a été faite en prenant comme point de repère la plus réfrangible des 2 raies D. Le micromètre est éclairé par une petite ampoule à incandescence.

Pour produire la volatilisation des substances minérales nous nous sommes servi de l'étincelle donnée par une bobine d'induction.

BOBINE D'INDUCTION. — Cette bobine comporte un fil inducteur de 70 mètres de longueur sur 12/10 de millimètre de diamètre et un fil induit de 17.000 mètres sur 14/100 de millimètre de diamètre. La longueur de l'étincelle dans l'air est de 14 centimètres. L'interrupteur est un trembleur à marteau. Le condensateur du circuit inducteur est formé de 70 feuilles d'étain, isolées par du papier paraffiné.

Nous nous sommes parfois servi avec avantage d'un condensateur du circuit induit, monté en dérivation : il était constitué par 5 plaques d'opaline, portant sur chaque face une feuille d'étain de 40×50 centimètres ; ces armatures étaient groupées en quantité.

Le courant primaire était fourni par une batterie d'éléments au bichromate à un liquide, donnant 10 Volts et 5 Ampères.

ECLATEUR. — La dissolution saline était placée dans un tube de verre traversé à sa partie inférieure par un fil de platine, formant électrode négative. Le pôle positif était constitué par un gros fil du même métal, venant affleurer le liquide à un ou deux millimètres de sa surface. La dissolution doit toujours être réunie au pôle négatif de la bobine.

L'on peut opérer directement sur l'urine ; cependant au bout d'un certain temps, l'électrode positive se recouvre d'un enduit charbonneux, provenant de la décomposition des matières organiques. Il est de beaucoup préférable d'agir comme il suit : l'urine est évaporée à l'étuve, après avoir été additionnée d'un peu de carbonate de sodium ; l'extrait sec ainsi obtenu est calciné en présence d'azotate d'ammonium. Le résidu, masse blanche formée par les sels minéraux fondus, est dissous dans de l'eau distillée, aiguisée d'acide chlorhydrique. La solution ainsi préparée, est placée dans le tube éclateur.

B. — Spectres d'émission des Urines normales.

Les composés minéraux métalliques dont la présence est constante dans les urines *normales* appartiennent aux métaux suivants :

SODIUM
POTASSIUM
CALCIUM
MAGNÉSIUM
FER

Certains auteurs y ont également décrit des traces de *Rubidium*, de *Manganèse*, de *Lithium*, et de *Césium*. Nous reconnaissons le lithium comme normal.

1. — *Sodium*.

Le Sodium se caractérise tout à fait facilement au moyen de ses 2 raies jaunes coïncidant avec la raie D de Fraunhofer. Les longueurs d'onde de ces raies sont :

$$\begin{aligned} D_1 : L (1) &= 588,9 \\ D_2 : » &= 589,5 \end{aligned}$$

L'adjonction du condensateur fait apparaître une troisième raie très pâle dans l'orangé :

$$L = 615,5$$

2. — *Potassium*

La présence de ce métal est mise en évidence par une double raie en l'extrême rouge :

(1) Les longueurs d'ordre L sont exprimées en millionnièmes de millimètres.

$$L = 770$$

$$L = 766$$

Les autres raies du Potassium sont masquées par la grande proportion de sodium contenue dans l'urine.

3. — *Calcium.*

Pour observer nettement le spectre du calcium, il est utile d'opérer comme il suit : le résidu de l'évaporation et de la calcination d'un litre d'urine est repris par la quantité nécessaire d'eau distillée, mélangée d'un peu d'acide chlorhydrique. La solution est neutralisée par l'ammoniaque, et l'on y précipite la chaux par le carbonate d'ammonium. Le précipité formé est recueilli sur un filtre et dissous dans une solution d'acide chlorhydrique. Le Calcium est ainsi amené à l'état de chlorure, et sa concentration, relativement élevée, permet d'observer une série de bandes dégradées au milieu desquelles se distinguent un grand nombre de raies, dont les plus nettement visibles sont :

$$\text{dans l'orangé } L = 620,2$$

$$\text{» » » } = 618$$

$$\text{dans le jaune } L = 554,3$$

$$\text{» » » } = 551,7$$

4. — *Magnésium.*

De même que pour le calcium, il est nécessaire d'avoir une solution assez concentrée, et débarrassée de la majeure partie des sels étrangers. Nous avons opéré de la façon suivante : deux litres d'urine sont

réduits au cinquième de leur volume primitif en présence d'un peu d'acide oxalique ; on filtre et l'on précipite le filtratum par une solution de carbonate de sodium à l'ébullition. On recueille le carbonate de magnésium, et on le dissout dans de l'eau chlorhydrique, de façon à avoir une solution aussi concentrée que possible. L'on peut alors observer un spectre composé de 2 raies vertes très nettes, coïncidant avec la raie *b* du spectre solaire :

$$L = 518,3$$

$$» = 517$$

5. — *Fer.*

La très faible proportion de fer contenue dans les urines, et d'autre part, son état « dissimulé » en empêchant la précipitation et la concentration par ses réactifs ordinaires, il est fort difficile d'arriver à produire un spectre caractéristique. Le spectre de ce métal étant composé d'un très grand nombre de raies, il devient nécessaire d'en identifier dans les diverses radiations, ce qui est tout à fait délicat et peu sûr avec des relations très étendues.

6. — *Rubidium, Lithium, Césium.*

L. GRANDEAU ayant affirmé la présence du *Rubidium* et du *Césium* dans les urines normales, nous avons cherché les caractères spectraux de ces métaux. Vingt litres d'urine furent évaporés à sec, le résidu calciné en présence d'azotate d'ammonium puis traité par l'eau régale pour transformer tout en

chlorures : nouvelle évaporation à sec. Ce résidu fut traité d'après la méthode de *Frésenius*, particulièrement applicable lorsqu'il s'agit de déceler des traces de rubidium et de césium en présence de grandes quantités de sodium et de potassium. La masse des chlorures est traitée par un peu d'acide chlorhydrique et de l'alcool et l'on sépare ainsi la majeure partie des chlorures de sodium et de potassium. On évapore la dissolution à sec et on précipite par le bichlorure de platine. On lave sur filtre avec de l'eau bouillante, qui dissout surtout le chlorure double de potassium. Le résidu, calciné et repris par l'eau, contient les chlorures de rubidium et de césium. Dans ces conditions, nous avons observé une raie violette assez pâle qui semblait coïncider avec la raie du rubidium :

$$L = 420,2.$$

Quant au Césium, ses raies ne sont pas apparues avec des urines normales. Nous donnerons plus loin le procédé de recherche du lithium.

En résumé, l'extrait sec calciné des urines normales, observé au spectroscope, permet d'apercevoir en dehors de quelques raies de l'air, les raies brillantes suivantes :

Dans le rouge $L = 770$ (POTASSIUM):
 » = 766 » »

Dans l'orangé » = 620,2 (CALCIUM).
 » = 618 » »

Dans le <i>jaune</i>	» = 589,5	(SODIUM).
	» = 588,9	» »
	» = 554,3	(CALCIUM).
	» = 551,7	» »
Dans le <i>vert</i>	» = 518,3	(MAGNÉSIUM).
	» = 517	» »

C. — Spectres d'émission des métaux qui ne se trouvent qu'accidentellement dans les urines.

Les principaux métaux qui, introduits dans l'organisme à titre thérapeutique ou autre, et dont l'élimination se fait en partie dans les urines, sont les suivants :

MERCURE.
 CUIVRE.
 PLOMB.
 ZINC.
 ARGENT.
 STRONTIUM.
 LITHIUM.
 BISMUTH.

Etudions maintenant leur recherche spectrale.

1. — *Mercuré*.

Les composés du mercure introduits dans l'organisme, surtout sous forme d'injections hypodermiques, s'éliminent en grande partie dans les urines. Nous avons examiné à ce sujet des urines de syphi-

litiques traités par des injections de sels solubilisés : *biiodure*, *benzoate*. La présence du mercure a pu être décelée environ trois heures après l'injection, dans la plupart des cas. Nous opérions de la façon suivante : l'urine, fortement acidifiée par l'acide chlorhydrique fumant, était évaporée au bain-marie à $\frac{1}{4}$ de son volume primitif, puis filtrée. Ce filtratum était traité par l'hydrogène sulfuré jusqu'à saturation, et le léger précipité formé était recueilli, lavé, puis dissous dans l'eau régale : évaporation à sec, puis reprise par l'eau alcoolisée. On obtenait ainsi une solution de bichlorure de mercure prête pour l'expérimentation. L'on diminue notablement le spectre de l'air en mouillant l'électrode positive avec la solution, et en renversant de temps en temps les pôles du courant. On observe alors deux raies brillantes, l'une dans le *jaune*, l'autre dans l'*indigo*, cette dernière étant beaucoup moins visible :

$$\begin{aligned} L &= 546 \\ » &= 435,5 \end{aligned}$$

Nous avons également recherché la présence du mercure dans nos propres urines et dans celles d'un jeune enfant après ingestion de vingt centigrammes de *calomel*. Dans ce cas, la proportion de métal trouvée dans l'urine est beaucoup plus faible, et, même en opérant sur l'excrétion de 24 heures, la première raie, seule, s'est montrée nettement.

2. — *Cuivre*.

Plusieurs auteurs ont parlé de la présence du cuivre dans l'urine des ouvriers travaillant journalle-

ment ce métal : chaudronniers, repousseurs, etc. Certains même ont noté la coloration verte des dalles d'urinoirs des usines de cuivre.

Nous avons eu l'occasion de rechercher ce métal dans l'urine d'un chaudronnier, hospitalisé dans le service de M^r DREYFUS-BRISAC à Lariboisière. Cet homme, âgé de 40 ans, travaillait dans le cuivre depuis une vingtaine d'années. Deux litres de ses urines, traités comme il a été dit pour la recherche du mercure, ne nous donnèrent pas les raies vertes caractéristiques du cuivre.

3. — Plomb.

La recherche de ce métal dans l'urine des saturnins ne nous semblait pas devoir donner grand résultat. L'on sait en effet que le plomb est presque entièrement éliminé par les matières fécales. D'autre part, le spectre de ses solutions est assez inconstant, surtout lorsque celles-ci sont très diluées. Nous avons expérimenté à ce sujet l'urine d'un saturnin du service de M^r FERNET à Beaujon. Les résultats furent négatifs.

4. — Zinc.

Nous avons recherché la présence du zinc dans nos urines après avoir absorbé pendant 3 jours une dose quotidienne de *valérianate de zinc* égale à 0 gr. 25. Trois litres du liquide sont évaporés à sec, et le résidu, traité par l'acide chlorhydrique bouillant est calciné. L'on reprend par 400^{cc} d'eau distillée bouillante, qui dissout une partie de l'extrait. La solution ainsi obtenue est précipitée par le chlorhy-

drate d'ammoniaque et l'ammoniaque, et le précipité d'oxyde hydraté est dissous dans l'acide chlorhydrique. L'on observe alors 2 raies dans le *bleu*, très nettes et une autre dans l'*orangé* beaucoup moins marquée :

$$L = 484, 3$$

$$» = 472, 2$$

$$» = 636$$

5. — *Strontium*

Les sels de strontium introduits dans l'organisme s'éliminent en majeure partie par le rein, probablement à l'état de chlorure. La présence du métal peut être décelée dans l'urine environ cinq heures après l'ingestion, comme nous l'avons constaté après avoir absorbé un gramme de carbonate de strontium. L'observation du spectre caractéristique est gênée par la présence des composés alcalins et du calcium. Il faut donc éliminer, autant que possible, la majeure partie de ces derniers.

L'urine est évaporée à sec et calcinée. Le résidu, repris par l'eau, est précipité par le carbonate de sodium. Le précipité, dissous dans l'eau aiguisée d'acide azotique, est évaporé à sec, puis traité par l'alcool absolu, qui laisse l'azotate de strontium. Ce dernier, dissous dans l'eau chlorhydrique, est placé dans le tube éclateur. Il y a intérêt à renverser de temps en temps les pôles du courant : le spectre gagne notablement de netteté.

L'on observe un spectre composé de raies et de bandes dégradées :

1° Une raie bien isolée dans le *bleu*, $L = 450,8$.

2° Une série de bandes dans l'*orangé* et le *rouge* au milieu desquelles se détachent :

$$\begin{aligned} L &= 606 \\ » &= 603 \\ » &= 636,5 \\ » &= 663 \end{aligned}$$

6. — *Lithium*.

Depuis que les sels de lithine ont conquis une place importante dans le traitement de la lithiase, il est devenu intéressant de rechercher leur présence dans les urines. L'on peut faire directement cette recherche sur l'excrétion de 24 heures, après ingestion de 0 gr. 50 de carbonate de lithine. Le spectre est très beau et fort net : une raie rouge et une raie jaune :

$$\begin{aligned} L &= 670,5 \\ » &= 640 \end{aligned}$$

La première est de beaucoup la plus visible ; mais ce rapport est renversé, si l'on isole la lithine et que l'on concentre la solution. On aperçoit alors une raie dans le *bleu* :

$$L = 460,5$$

Ceci est tout à fait concordant avec les travaux de Lecoq de Boisbaudran (1), qui ont montré que les

(1) LECOQ DE BOISBAUDRAN. *Spectres lumineux*. Paris, 1874.

solutions concentrées de sels de lithium laissaient voir surtout la raie jaune, tandis que la dilution augmentait l'intensité relative de la raie rouge

7. — *Bismuth.*

Les composés du Bismuth s'éliminant en presque totalité par l'intestin à l'état de sulfure, il n'est pas étonnant que la recherche de ce métal dans l'urine ne nous ait donné aucun résultat positif.

8. — *Argent.*

L'urine d'un pneumonique traité par des frictions au *collargol* ne nous a pas donné les raies verte et jaune caractéristiques du métal. C'est la seule observation faite sur un malade traité par les composés argentiques.

En résumé, les recherches spectrales des composés métalliques dans l'urine sont tout à fait satisfaisantes dans les cas où l'on a affaire aux métaux suivants :

MERCURE
ZINC
STRONTIUM
LITHIUM

Pour le *Plomb*, le *Cuivre*, et l'*Argent*, il serait intéressant d'avoir de nouvelles observations.

CHAPITRE II

Généralités. — Spectres d'absorption de l'urine normale observée directement.

Il est de toute nécessité, dans l'étude d'un spectre *d'absorption*, d'expérimenter avec un appareil qui permette d'observer DES ÉPAISSEURS CROISSANTES DU LIQUIDE MIS EN EXPÉRIENCE. L'aspect spectral varie, en effet, d'une façon notable avec l'épaisseur ou la concentration, et souvent des bandes d'absorption passent inaperçues par suite de la trop faible épaisseur, ou de la trop forte dilution des composés mis en œuvre. Dans ce but, nous avons fait construire une cuve à épaisseur variable, qui permet d'observer des tranches de liquide entre 0 et 130 millimètres.

CUVE A ÉPAISSEUR VARIABLE. — Cet appareil se compose essentiellement d'un tube de cristal de 4 centimètres de diamètre, fermé à sa partie inférieure par un disque de verre bien dressé et maintenu en place par un collier métallique à vis; le tout est posé sur une platine perforée, que l'on peut lever ou abaisser au moyen d'une vis latérale devant laquelle se trouve placée une graduation en millimètres, avec vernier à $1/10^e$. Un cylindre de verre,

fermé à ses 2 extrémités par des plans parallèles, est maintenu dans l'axe du précédent tube : son diamètre est de 2 centimètres. A mesure que le gros cylindre s'abaisse, les tranches de liquide, interceptées entre sa paroi frontale et la glace inférieure du petit cylindre, deviennent de plus en plus épaisses et la variation en est donnée par la graduation. Le pinceau lumineux, introduit par le bas du dispositif au moyen d'un miroir, traverse le liquide, puis se réfléchit sur un miroir supérieur, qui l'envoie sur la fente du spectroscopie.

L'appareil est sur vis calantes avec niveau.

SOURCE LUMINEUSE. — Le foyer d'éclairage était constitué par le manchon d'un bec *Denayrouze*, fonctionnant à l'alcool sous pression. L'intensité lumineuse donnée atteignait 180 bougies. Les rayons étaient condensés par une lentille et envoyés sur le miroir intérieur de la cuve. Malgré l'avis de beaucoup de spectroscopistes, nous pensons qu'il est, préférable *de ne pas éclairer constamment* l'échelle micrométrique.

L'œil, en effet, se fatigue inutilement sur cette surface lumineuse et perd de sa sensibilité. Nous estimons qu'il vaut mieux repérer les limites des bandes avec le fil du *réticule*, puis, à ce moment seulement, éclairer le *micromètre* : c'est pour cette raison que nous conseillons comme source lumineuse une petite ampoule électrique, qui permet aisément l'éclairage intermittent.

Enfin nous jugeons utile d'insister encore sur le point suivant : DANS AUCUN CAS, L'ON NE DOIT CONSIDÉRER COMME EXÉCUTÉE UNE DÉTERMINATION SPECTRALE

QUI N'A PORTÉ QUE SUR UNE ÉPAISSEUR DE SOLUTION : d'autre part, les conditions de dilution et d'épaisseur doivent être nettement indiquées, pour que l'observation ait une valeur quelconque. Ce point est malheureusement trop souvent oublié, *ce qui cause la divergence d'opinion de plusieurs observations sur la même expérimentation. De même qu'un volume gazeux ne signifie rien si l'on ne mentionne la température et la pression, de même une bande spectrale n'a aucune valeur diagnostique, si ses constantes ne sont accompagnées des conditions expérimentales.*

Voyons maintenant ce que l'on observe lorsqu'on examine au spectroscope des épaisseurs croissantes d'urines considérées comme normales. Il faut avoir soin, au préalable, d'acidifier par quelques gouttes d'acide chlorhydrique ou acétique. Pour une épaisseur donnée, l'on voit apparaître une faible bande obscure dans le *vert*, ayant pour limites $L = 509$ et $L = 484,5$.

En même temps, les deux extrémités du spectre sont absorbées. Le phénomène se produit pour des épaisseurs variant selon les urines, selon la richesse, en pigment, de celles-ci ; mais, dans les urines normales, il nous a toujours fallu une épaisseur d'au moins 40 millimètres pour observer la bande. Nous verrons plus loin que ce spectre est dû à l'*Urobiline*.

En augmentant l'épaisseur, l'on aperçoit généralement une autre bande dans le *rouge-orangé* entre $L = 627$ et $L = 550$.

Telles sont les deux seules bandes que présente l'urine normale dans les conditions d'épaisseur de notre appareil.

CHAPITRE III

Spectroscopie des composés colorés des urines normales. Pigments urinaires normaux.

L'identification et le dosage des PIGMENTS URINAIRES est une des questions les plus complexes de la chimie physiologique. Aussi, malgré le nombre de recherches faites sur ce sujet, le problème est-il encore mal résolu. Pour se faire une idée à peu près nette sur ce sujet, il est utile de résumer l'histoire de la question. GAUTRELET (1) a résumé d'une façon très intéressante les diverses phases de la chimie des matières colorantes de l'urine.

Les premiers travaux datent de 1800. PROUST (2) rattache le pigment coloré normal à l'acide urique et le considère comme analogue à la *murexide*, au *purpurate d'ammonium*.

Peu après, VAUQUELIN dénomme « *acide rosacique* » la matière colorante qui recouvre souvent les précipités d'acide urique.

Vers 1840, SIMON (3) et HELLER prononcent les mots d' « *uroérythrine, uroxanthine, urrhodine* ».

(1) *Spectroscopie critique des pigments urinaires normaux*. Paris 1900.

(2) PROUST. *Annales de chimie*, 1880, cité par GAUTRELET.

(3) SIMON. *Journ. für praktische chemie*. 1841, t. xxii cité par GAUTRELET.

Depuis cette époque, les travaux sur les pigments urinaires se sont multipliés. Notons, en passant, les principaux : JAFFÉ commence à donner à la question un caractère véritablement scientifique ; il découvre l'*urobiline* pendant que THUDICHUM identifie l'*urochrome*. MÉHU donne un procédé général de préparation des pigments d'origine animale. MAC-MUNN, HOPPE-SEYLER, GAUTRELET, A. HÉNOQUE s'occupent du dosage de l'*urobiline*. Enfin, tout récemment, MAILLARD met au point d'une façon tout à fait précise la question de l'*indoxyle urinaire* (1).

Somme toute, ont été considérés comme pouvant se trouver dans les urines, soit normales, soit pathologiques, les *pigments* ou *chromogènes*, dont nous donnons ici la longue liste :

UROBILINE
UROCHROME
UROÉRYTHRINE
UROSPECTRINE
UROMÉLANINE
INDICAN
URIANE
OMICHOLINE
ACIDE OMICHOLIQUE
HÉMIINDIGOTINE
UROROSÉINE
PIGMENT ROUGE DE GIACOSA
UROBILINOGENE
UROCHROMOGENE
UROROSÉINOGENE
ACIDE INDOXYLSULFURIQUE

(1) MAILLARD. *L'indoxyle urinaire*. Paris, 1903.

UROCYANINE
BILIRUBINE
BILIVERDINE
CHOLÉCYANINE
HÉMOGLOBINE
HÉMATOPORPHYRINE
MÉTHÉMOGLOBINE
HÉMATINE

Nous étudierons dans ce chapitre les pigments qui ont été considérés comme NORMAUX.

1. — *Urobiline*.

L'*urobiline* est un corps très voisin sinon semblable à l'*hydrobilirubine*, produit de réduction, par l'amalgame de sodium, des pigments biliaires. Les propriétés des deux corps sont très voisines : mêmes propriétés physiques, fluorescence par le chlorure de zinc, ammoniacal, enfin identité de formule centésimale : $C^{32}H^{40}Az^4O^7$. D'autre part, MALY a signalé la présence de l'*hydrobilirubine* dans la bile normale de l'homme. L'*urobiline* se trouve principalement dans les cas de cirrhose atrophique, et son abondance avait conduit GUBLER à sa division des ictères en *hémaphéïques*, avec urobilinurie, et *ictères vrais*, avec pigments biliaires vrais. C'est dans les urines de ces cirrhotiques, qu'il convient d'aller la chercher, lorsqu'on désire l'obtenir en quantités appréciables.

L'*urobiline* n'a jamais été obtenue à l'état cristallisé ; elle se présente sous l'aspect d'une masse brune soluble dans l'alcool, le chloroforme, l'éther

la benzine, l'eau acidulée. Elle est précipitée complètement par le sulfate d'ammonium en excès, l'acétate de plomb, et, en général, par les sels neutres à saturation. Sa principale réaction chimique est la fluorescence verte très nette qu'elle présente avec le chlorure de zinc ammoniacal.

Elle donne également la réaction de SCHMIDT (1) ; coloration rouge en présence du bichlorure de mercure.

Enfin, le réactif de NESSLER y développe une teinte rouge-brique. Les procédés d'isolement et de dosage de l'urobiline varient suivant les auteurs : les résultats spectraux sont également différents, ce qui indique la non-identité des corps obtenus. Nous rappellerons ici les principaux.

A. — MÉTHODE DE JAFFÉ.

C'est JAFFÉ qui, le premier, en 1868, essaya de préparer l'urobiline. Au moyen de l'azotate ou du nitrate de Baryum, il précipite les phosphates et sulfates. La liqueur filtrée est précipitée par l'acétate neutre de plomb, qui entraîne les pigments. Ce précipité, séché, est mis en suspens dans l'alcool à 90° bouillant. On le décompose par l'alcool mélangé d'acide sulfurique ; on filtre, traite la solution par l'ammoniaque, puis on étend d'eau et l'on extrait par le chloroforme, qui laisse l'urobiline par évaporation.

Nous avons ainsi obtenu une faible quantité de

(1) SCHMIDT, cité par GAUTRELET dans *Spectroscopie critique*, etc.

pigment, en opérant sur 4 litres d'urine. Cet extrait, dissous dans de l'alcool acidulé par l'acide chlorhydrique, a montré, pour une épaisseur de 6 centimètres, deux bandes d'absorption, l'une dans le *vert*, l'autre à cheval sur le *vert* et le *bleu*. La première s'étendait de $L = 580$ à $L = 551$; et la seconde, de $L = 505$ à $L = 478$ (1). En augmentant l'épaisseur, les deux bandes se fusionnent peu à peu et lorsqu'on atteint 125 millimètres, on n'observe plus qu'une seule bande noire commençant à $L = 578$ et marquant toute la région droite du spectre.

B. — MÉTHODE DE SALKOWSKI.

L'urine est fortement agitée avec son volume d'éther neutre concentré. La couche supérieure est alors décantée. Le résidu de l'évaporation, dissous dans l'alcool acide, donne une bande dans le *vert-bleu*, ayant pour limites $L = 509$ et $L = 485$. Ce procédé très simple est malheureusement incomplet : il n'enlève pas toute l'urobiline, et, d'autre part, cette dernière est souvent souillée de produits étrangers.

C. — MÉTHODE DE BOGOMOLOFF.

Elle est fondée sur la précipitation de l'urobiline par le sulfate de cuivre. Un volume donné d'urine est additionné d'une solution aqueuse de sulfate de cuivre : il se forme un précipité brunâtre. Les résultats sont très différents, selon que l'on a opéré en solution acide ou alcaline :

(1) Voir PLANCHE I, n° 6

1° L'urine était acide : si l'on reprend l'urine sulfatée par le chloroforme on extrait un pigment qui donne en solution alcoolique une bande entre $L = 509$ et $L = 485$ (1). Nous considérons ce procédé comme l'un des meilleurs pour la préparation de l'urobiline.

2° L'urine était alcaline : le même traitement nous a permis d'extraire une substance donnant une bande dans le *vert* entre $L = 520$ et $L = 500$. Cette bande est presque identique à celle que l'on obtient en traitant l'urobiline par le chlorure de zinc ammoniacal.

D. — MÉTHODE DE VIGLEZIO.

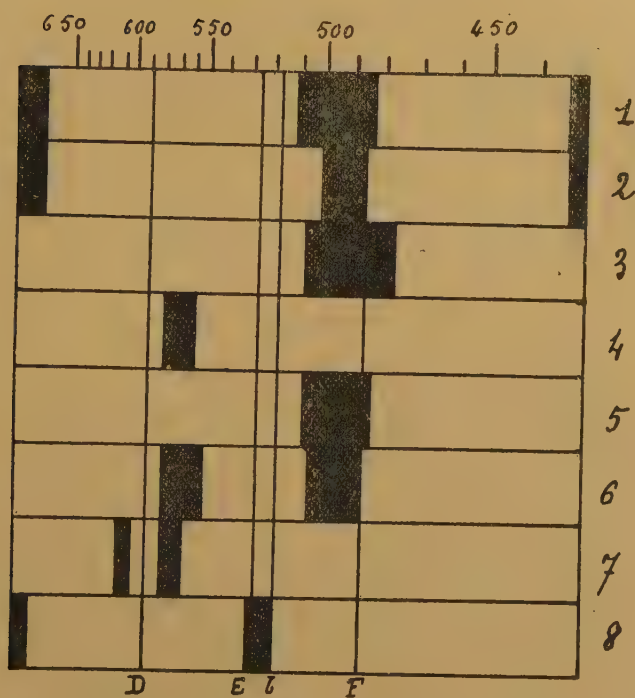
L'urine, acidifiée par l'acide sulfurique est saturée par son poids de sulfate d'ammoniaque : on agite très longtemps et l'on filtre. Le précipité, lavé à l'eau sulfato-ammoniacale, est séché, et l'alcool en extrait la matière. Cette méthode nous a donné le même résultat que le procédé précédent : elle lui est inférieure, car la séparation complète est difficile.

E. — MÉTHODE DE SONNIÉ-MORET.

L'urine est additionnée du tiers de son volume d'acide chlorhydrique concentré, et chauffée : on laisse refroidir, on reprend par l'éther neutre et l'on évapore. L'extrait, dissous dans l'alcool, nous a donné des résultats différents de ceux de l'auteur. et le produit ainsi préparé s'est absolument com-

(1) Voir PLANCHE I. N° 5.

PLANCHE I. — 8 SPECTRES



- Légende :
1. — Urobiline en sol. alcool acide (Parmentier).
 2. — Urobiline + Am OH + Zn Cl² (Parmentier).
 3. — Urobiline alcool. acide (Lefèvre).
 4. — Urobiline procédé Cordier (Parmentier).
 5. — Urobiline procédé Bogomoloff.
 6. — Urobiline procédé Jaffé.
 7. — Uroérythrine (Gautrelet).
 8. — Uroérythrine procédé Tudichum (Parmentier).

porté comme l'urobiline de JAFFÉ. Nous lui faisons de plus l'objection d'employer à chaud un acide énergique, qui ne peut qu'altérer le pigment.

F. — MÉTHODE DE MÉHU.

Cette méthode est une variante du procédé de VIGLEZIO : elle lui est inférieure par la plus grande quantité d'acide sulfurique ajoutée. MÉHU l'avait donnée comme un procédé général de préparation des pigments animaux. Nous avons préparé de l'urobiline par ce mode opératoire, et le produit obtenu s'est montré identique à celui de JAFFÉ.

G. — MÉTHODE DE CORDIER-GAUTRELET

L'urine, acidifiée par l'acide chlorhydrique, est traitée en deux fois par du chloroforme, et agitée fortement. Le chloroforme, séparé de la solution, est évaporé, et le résidu repris par l'alcool. Ayant opéré de cette façon, nous avons extrait un corps rouge-brun qui, en solution alcoolique acide, nous a donné une bande dans le *jaune* empiétant sur le *vert* et comprise entre $L = 580$ et $L = 556$ (1). Pour une épaisseur plus grande, nous avons vu apparaître une deuxième bande occupant bien la place que nous attribuons à la bande caractéristique de l'urobiline pure. Depuis les travaux de MAILLARD nous sommes certains que ce procédé doit mettre en liberté de l'indigotine provenant de l'attaque des indoxylsulfates, et que, par suite, l'urobiline, ainsi préparée, est souillée de pigment bleu.

(1) Voir PLANCHE I. N° 4.

H. — MÉTHODE DE LEFÈVRE-GAUTRELET

GAUTRELET nous expose ainsi son procédé : 'sursaturer dans une éprouvette graduée et bouchée à l'émeri un volume quelconque d'urine, fraîchement émise et filtrée, au moyen de son poids de sulfate d'ammoniaque.

Ajouter moitié en alcool à 92° du volume ainsi formé. Agiter vivement jusqu'à émulsion complète de toute la masse. Laisser déposer. Au bout de peu de temps, l'alcool surnage la solution aqueuse sulfato-ammoniacale et l'on s'aperçoit qu'il présente une teinte jaune-rouge plus ou moins accusée. En décantant cet alcool, on n'a qu'à le filtrer et l'évaporer à basse température pour obtenir l'urobiline.

Nous avons expérimenté ce procédé, et obtenu des résultats identiques à ceux de l'auteur : une seule bande d'absorption, en solution alcoolique acide, comprise entre $L=505$ et $L=477$ (1)

I. — MÉTHODE DE DENIGÈS

DENIGÈS sépare l'urobiline des autres pigments au moyen de son réactif ainsi composé :

Oxyde mercurique	5 grammes
Acide sulfurique	25 cent. cubes
Eau	100 » »

L'urine est additionnée de la moitié de son volume de la solution sulfato-mercurique. Il se forme un précipité : l'on filtre, et le liquide ainsi

(1) Voir PLANCHE I. N° 3.

obtenu, contient seulement l'urobiline et se prête bien aux examens spectraux. Ce procédé est tout à fait précieux, car il isole l'urobiline des pigments biliaires, de l'hémoglobine, etc.

Cet exposé des différents modes de préparation de l'urobiline montre que la question est assez complexe.

Nous nous permettrons de critiquer tout d'abord les procédés qui mettent en œuvre des *acides énergiques, surtout à chaud* et en *quantité notable*. Nous sommes trop peu fixés sur la véritable composition des pigments pour avoir le droit de les considérer comme inaltérés, après les avoir soumis à des réactions trop violentes. Nous repoussons, d'autre part, le traitement par l'acide chlorhydrique et le chloroforme, car la simple agitation en présence de l'air détermine une oxydation des *indoxylsulfates* suffisante pour mettre en liberté l'*indigotine urinaire*, comme nous le verrons dans la suite. Pour ces diverses raisons, nous proposons un procédé de préparation de l'urobiline, s'appuyant en partie sur les procédés de préparation LEFÈVRE-GAUTRELET et DENIGÈS, lequel procédé nous a donné de très bons résultats.

J. — PROCÉDÉ DE L'AUTEUR

L'urine des 24 heures est additionnée d'un tiers de son volume de réactif de DENIGÈS, si elle ne contient pas de pigments biliaires ni de sang. Dans le cas contraire, ajouter la moitié de réactif mercurique. Lorsque le précipité est rassemblé, le filtrer rapide-

ment. Le filtratum est traité par l'hydrogène sulfuré, et la solution est traitée dans un entonnoir à séparation par son poids de sulfate d'ammoniaque. On agite vivement : l'on verse dans l'entonnoir un volume égal à celui de l'urine du mélange suivant :

Alcool éthylique à 95° 1.000 centi.cubes.

Alcool amylique pur 50 » »

L'on agite vigoureusement. La solution alcoolique décantée est évaporée, et l'extrait épuisé par l'éther à très basse température.

Après le traitement à l'hydrogène sulfuré, nous recommandons de faire passer dans le liquide filtré un courant d'anhydride carbonique qui chasse le gaz sulfhydrique.

1° Solution alcoolique à 0 gr. 25 pour 100 après acidification par l'acide chlorhydrique :

Épaisseur : 5 MILLIM. : Bande comprise entre
L=507 et L=484.

» » 10 MILLIM. : LA BANDE S'ÉLARGIT UN PEU
ELLE A POUR LIMITES L=
511 ET L=485,5 (1).

En même temps, les deux extrémités du spectre sont absorbées. Pour de plus grandes épaisseurs, la bande gagne surtout en intensité sans beaucoup s'élargir.

2° Même solution + ammoniaque : La solution se décolore peu à peu et les phénomènes d'absorption s'annulent.

3° Après addition de chlorure de zinc ammoniacal : la bande caractéristique est rejetée vers la gauche du

(1) Voir PLANCHE 1. N° 1.

spectre ; elle est située entre $L=518$ et $L=501$ pour une épaisseur de 10 millimètres (1).

Le manque d'urobiline nous a empêché de déterminer spectroscopiquement la coloration rouge produite par la réaction de Schmitt.

2. — Uroérythrine

L'uroérythrine a été considérée comme un pigment urinaire normal par HUGOUNENQ et par GAUTRELET. Ces auteurs l'ont décrite comme une matière brune soluble dans l'eau, l'alcool, peu soluble dans l'éther et l'alcool amylique à froid. Elle est attaquée par les alcalis fixes et l'ammoniaque. SIMON (2) la considère comme étant la substance rouge qui se dépose sur les cristaux d'acide urique précipités des urines acides. L'uroérythrine a été étudiée par THUDICHUM (3), MAC-MUNN, RIVA, RABUTEAU, GAUTRELET. Ces différents auteurs ont présenté des résultats qui sont loin de concorder. Les procédés de préparation de ce pigment ne sont d'ailleurs pas bien démonstratifs : nous allons les rappeler brièvement.

A. — PROCÉDÉ DE THUDICHUM

L'urine est traitée par l'acide chlorhydrique : on laisse reposer pendant 24 heures dans un mélange froid. Les cristaux colorés qui se déposent sont lavés sur un filtre avec de l'eau glacée, du chloro-

(1) VOIR PLANCHE 1. N° 2.

(2) F. SIMON. — Cité par HÉNOQUE.

(3) THUDICHUM. — Cité par HÉNOQUE.

forme, de l'éther, on dissout la masse dans l'eau chaude et l'on extrait par l'alcool amylique qui, évaporé à basse température, abandonne le pigment. Par ce procédé, GAUTRELET a obtenu une solution qui présente une seule bande spectrale sise dans le *jaune-vert*, près de D, entre $L=580$ et $L=568$ (1). Le même pigment dissous dans l'alcool éthylique donnait en plus une bande secondaire, située entre $L=610$ et $L=600$. En opérant de même, nos résultats ont été différents. Ayant utilisé plusieurs litres d'urine, nous avons obtenu une solution offrant une bande dans le *vert*, ayant pour limites $L=533$ et $L=518$ (2). Cette bande correspond plutôt au pigment « *uroroséine* ». Elle est bien voisine de la première des deux bandes attribuées par GARROD et SOJA à l'uroérythrine.

B. — PROCÉDÉ DE RABUTEAU

RABUTEAU abandonne l'urine à l'air en présence d'acide chlorhydrique et extrait par l'alcool amylique. Nous n'entrerons pas dans le détail de ce procédé pour les raisons données plus haut à propos de l'urobiline. Il se forme en effet une certaine quantité d'*indigotine* qui fausse les résultats.

En résumé, nous n'avons jamais rencontré dans l'urine normale un pigment présentant les caractères physiques, chimiques, ou spectraux de la matière colorante décrite par GAUTRELET sous le nom d'*uroérythrine*.

Le procédé THUDICHUM et celui de GARROD et SOJA

(1) Voir PLANCHE I. N° 7.

(2) Voir PLANCHE I. N° 8.

ne nous ont donné de résultat appréciable que dans des urines de rhumatisants, de typhiques, de tuberculeux, c'est-à-dire seulement dans des cas pathologiques.

3. — Uromélanine

Ce pigment, qui fut considéré comme normal par PROUST, THUDICHUM et SCHMITT (1), nous paraît avoir une existence plus que douteuse dans l'urine physiologique. PROUST l'extrait au moyen de l'alcool et obtient un composé noirâtre qu'il appelle « *résine urinaire* ». Nous allons rappeler les procédés de « *préparation* » des deux derniers auteurs.

A. — PROCÉDÉ DE THUDICHUM

Les urines sont précipitées par l'hydrate de baryte.

Le précipité brun est lavé à l'eau distillée, puis avec une solution de soude, qui le dissout. On filtre et l'on précipite ensuite par l'acide sulfurique. On traite par la soude et l'on recommence plusieurs fois la même opération : après une dernière précipitation on extrait le pigment par l'alcool.

Nous avons reproduit ces expériences : elles ne nous ont rien donné. SCHMITT s'étant montré le principal « *défenseur* » de l'uromélanine normale nous exposons sa méthode.

B. — PROCÉDÉ DE SCHMITT

L'urine, additionnée d'acide chlorhydrique et d'un peu d'acide nitrique, est portée à l'ébullition ;

(1) SCHMITT. *Matières colorantes de l'urine normale*. Paris, 1898

quand elle a pris une teinte noirâtre, on ajoute un excès de lessive de soude, de façon que le liquide soit nettement alcalin : on forme ainsi un uromélanate de soude, qui est insoluble dans l'alcool et qui se précipite par addition de ce liquide. On laisse reposer 24 heures, on jette sur un filtre, on lave à l'eau alcoolisée. Le précipité d'uromélanate est dissous dans un peu d'eau alcalinisée. On déplace l'uromélanine par un acide. On recueille sur filtre, on dissout dans l'alcool, qui abandonne le pigment par évaporation.

Nous ne pouvons réellement nous empêcher de trouver, avec GAUTRELET, le procédé un peu *énergique*. Traiter un pigment par de l'EAU RÉGALE A L'ÉBULLITION et le prétendre inaltéré, nous paraît chose surprenante, surtout lorsqu'on a vu l'auteur recommander, à juste titre, d'éviter les réactifs d'oxydation dans la recherche des matières colorantes, ne se servir que d'eau privée d'oxygène, et éviter les manipulations longues faites à l'air libre. Nous comprenons mieux Schmitt, lorsqu'il considère l'uromélanine comme produit d'oxydation ultime de l'urobiline, de l'urochrome ou de l'uroérythrine. Il serait fort étonnant qu'un pigment ainsi traité fut le résultat d'une *réduction*. « PRODUIT D'OXYDATION » nous paraît insuffisant ; il serait mieux de dire « PRODUIT DE DESTRUCTION COMPLÈTE ». Quoiqu'il en soit, SCHMITT trouve à son uromélanine normale les caractères suivants : Les solutions alcooliques sont brunes ou noires, selon le degré de concentration ; c'est un composé à fonction acide : elle forme avec les alcalis, des sels solubles dans l'eau, mais insolubles dans l'alcool. Les acides minéraux et l'acide

acétique séparent l'uromélanine de ses solutions alcalines. Les réducteurs régénèrent le pigment fondamental, l'urochrome. Enfin le spectre ne présenterait pas des bandes particulières, mais une simple extinction des radiations les plus réfrangibles.

Cette uromélanine serait différente de la mélanine que l'on observe dans les cas de cancer mélanique. BRIEGER la considère comme un dérivé du *scatol* : elle serait, d'après lui, au *scatol* comme l'*indigo* est à l'*indol*.

Nous avons répété les expériences de SCHMITT. Nous n'avons rien obtenu, si ce n'est parfois des traces d'urobiline impure. D'autre part, l'on n'obtient absolument pas de pigment, lorsqu'on a au préalable séparé l'urobiline au moyen du réactif de Denigès, dont nous avons déjà parlé. Nous devons donc considérer l'uromélanine de SCHMITT comme un produit formé en grande partie d'urobiline altérée par l'énergie de l'oxydation : en tous cas, il n'existe pas dans l'urine normale ; il y aurait lieu de rechercher dans les cas de cancer mélanique mais par des procédés différents de ceux de SCHMITT. Cet auteur a également décrit un pigment voisin de son uromélanine : la *parauiromélanine*.

4. — *Parauiromélanine*.

Ce pigment, appelé *uropittine* par THUDICHUM, se distinguerait du précédent par son insolubilité dans l'alcool et l'éther. On le retirerait du dépôt qui se forme dans les urines longtemps exposées à l'air en présence d'un acide. Les sels que formerait la pa-

rauromélanine sont solubles dans l'alcool, contrairement à ce qui se passe pour les présumés uromélanates. Nous faisons les mêmes objections que précédemment.

5. — *Urospectrine.*

Ce pigment, dont la connaissance nous est due aux travaux de SAILLET, a été considéré comme normal par cet auteur. Nous résumerons ses principales recherches sur ce point. Pour isoler l'urospectrine, on choisit une urine concentrée, de préférence celle du matin; nous l'acidifions au moyen d'une dizaine de gouttes d'acide acétique cristallisable pour 100 c. cubes d'urine, et nous l'agitons avec un volume d'éther acétique égal au volume d'urine: après ce traitement, il est absolument nécessaire que le liquide soit nettement acide; sinon, il faudrait forcer la dose d'acide acétique. L'on agite vigoureusement. On constate alors que l'éther s'est un peu coloré aux dépens de l'urine. Quand on traite successivement plusieurs volumes d'urine par un seul et même volume d'éther, celui-ci se colore de plus en plus, et on remarque facilement qu'il enlève à l'urine les pigments rouge-orange, lui laissant les pigments jaunes. Au sein des pigments rouge-orange, le spectroscope peut déjà déceler la présence de l'urospectrine avec son spectre en solution éthérée acide. L'éther acétique contient, outre l'urospectrine, l'indican, des phénols, etc. Pour l'en isoler, nous agitons avec de l'eau acidulée à 5 pour 100 d'acide chlorhydrique; cette eau s'empare de

l'urospectrine, et la solution est déjà très pure si l'opération a été faite à l'abri de la lumière : elle présente une teinte rouge-mauve et le spectre de l'urospectrine en solution acide. La solution aqueuse est séparée, neutralisée par l'ammoniaque, puis acidulée d'acide acétique, et on la secoue avec de l'éther sulfurique, qui s'empare de l'urospectrine seule, l'urobiline restant dans l'eau. On reprend par de l'eau chlorhydrique à 5 pour 100. En neutralisant par l'ammoniaque, le pigment se précipite ; on lave sur filtre, puis au chloroforme. Les caractères de la matière colorante sont les suivants : insolubilité dans l'éther de pétrole, faible solubilité dans l'eau, le chloroforme, les éthers acétique et sulfurique, grande solubilité dans l'alcool, les acides minéraux et les alcalis.

Les caractères spectraux de l'urospectrine sont différents selon que l'on opère en solution alcoolique acide, en liqueur alcaline, ou en solution acide proprement dite :

1° Spectre en solution alcoolique acide : on observe la présence de cinq bandes d'absorption : la première, entre C et D, très noire, très étroite (longueur d'onde moyenne $L = 626$) ; la deuxième, à la gauche de D (longueur d'onde moyenne $L = 600$) ; la troisième, à la droite de D ($L = 575$) ; la quatrième à la gauche de E ($L = 535$) ; la cinquième entre *b* et F très large et très noire ($L = 492$). L'extrémité violette du spectre est obscurcie à partir de G.

2° Spectre en solution alcaline : 4 bandes d'absorption : la première, entre C et D ($L = 622$) ; la deuxième, à la droite de D ($L = 570$) ; la troisième, à la gauche de E ($L = 542$) et la quatrième, entre *b* et F ($L = 500$).

3° Spectre en solution franchement acide : 3 bandes d'absorption : la première, à la gauche de D ($L = 595$) ; la deuxième, peu visible ($L = 572$) ; la troisième, large et très noire a pour longueur d'onde moyenne $L = 550$ (1).

Dans l'acide nitrique contenant de l'acide hypozotique, le pigment verdit ; c'est là, semble-t-il, une variété de la réaction de GMELIN. Les autres acides minéraux froids et l'acide chlorhydrique à l'ébullition n'attaquent pas l'urospectrine. SAILLET nous dit que son pigment est peu stable : cette affirmation nous semble peu fondée, lorsqu'elle s'applique à un composé physiologique qui résiste à l'action de l'acide sulfurique à froid et de l'acide chlorhydrique bouillant !

Si, après avoir opéré à la lumière rouge et avoir enlevé l'urospectrine à l'éther acétique, l'on expose cet éther à la lumière solaire, l'on constate que l'eau acidulée lui enlève une nouvelle quantité d'urospectrine : cette nouvelle quantité est même trois fois plus forte que celle primitivement soustraite. Un quart seulement du pigment se trouverait en nature dans l'urine et les trois autres quarts figureraient à l'état de chromogène. L'urospectrine ne se trouverait dans l'urine qu'à la dose de 2 à 11 *milligrammes* par 24 heures.

Nous avons répété les expériences de SAILLET et obtenu une masse pigmentaire qui nous a donné des résultats spectraux voisins de ceux de l'auteur ; mais, après avoir pratiqué des épuisements fractionnés au chloroforme, à l'éther et à l'alcool,

(1) PLANCHE II. N°s 9, 10, 11.

nous avons constaté des variations notables dans l'aspect et le nombre des bandes. Nous avons ainsi obtenu des solutions présentant, tantôt le spectre prédominant de l'urobiline, tantôt celui de l'hématoporphyrine et même parfois celui de l'indirubine. Il nous semble donc que l'urospectrine ne serait qu'un mélange d'urobiline et d'hématoporphyrine plus ou moins altérées.

La présence de raies appartenant à l'hématoporphyrine ne nous étonne pas, puisque, comme nous le dirons dans la suite, nous considérons l'hématoporphyrine comme existant en très faible quantité dans les urines les plus normales, comme étant avec l'urobiline le seul pigment constant et définitif de l'excrétion physiologique.

6. — *Urochrome*.

Le nom de ce pigment prête à bien des confusions THUDICHUM le considérait comme la matière colorante principale de l'urine normale. GAUTIER l'identifie avec l'urobiline ; mais LEFÈVRE (1) lui donne une individualité propre. L'urochrome se présentait sous l'aspect de masses jaunes très solubles dans l'eau distillée, l'eau saturée de sulfate d'ammoniaque, mais insolubles dans l'alcool et le chloroforme. La solution ammoniacale d'urochrome serait fluorescente en présence de chlorure de zinc. SCHMITT nous dit que la matière colorante est précipitée par le chlorure de fer, l'azotate d'argent, l'acétate neutre et l'acétate basique de plomb.

Sous l'action des acides étendus, l'urochrome, se-

(1) LEFÈVRE. Thèse de Bordeaux, 1898.

lon ces auteurs, se transformerait en deux pigments, l'un rouge, l'autre noir ; le premier serait l'acide omicholique de THUDICHUM, et le second, l'uromélanine. A titre documentaire, nous décrivons les procédés de préparation de cette matière colorante.

A. — PROCÉDÉ DE SCHMITT.

L'urine est additionnée d'acétate et d'hydrate de baryte jusqu'à alcalinité, on laisse reposer 24 heures. L'on filtre et la solution additionnée d'acétate de plomb ammoniacal fournit un précipité, qui est trituré avec de l'acide sulfurique étendu. On filtre, puis neutralise par le carbonate de baryum ; filtration, puis précipitation de la baryte par un courant d'acide carbonique.

L'urochrome est alors précipité de sa solution au moyen de l'acétate de mercure, puis mis en liberté par l'hydrogène sulfuré. Par évaporation du filtratum, l'urochrome cristallise.

B. — PROCÉDÉ DE GAUTRELET.

L'urine fraîchement émise et rapidement filtrée est saturée par son poids de sulfate d'ammoniaque, comme pour la préparation de l'urobiline. On ajoute moitié de volume formé en alcool à 92°. Il se forme bientôt deux couches : l'une supérieure, alcoolique, rouge-jaunâtre, contenant l'urobiline pure, et l'autre formée par une solution saturée de sulfate d'ammoniaque, et colorée faiblement par l'urochrome.

Si l'on sépare au moyen d'un entonnoir à robinet

les deux couches pigmentaires, et que l'on agite l'inférieure avec de l'éther, le pigment est repris par ce solvant, puis obtenu pur par évaporation à la température ordinaire.

Les quantités d'urochrome ainsi obtenues sont très faibles. Enfin, l'on n'obtient aucun résultat quand on opère sur l'urine de 24 heures.

Nous avons reproduit ces expériences : elles nous ont donné les résultats suivants :

1° En opérant sur une urine fraîchement émise, nous avons obtenu une couche inférieure sulfato-ammoniacale absolument incolore, mais qui, au bout de 48 heures, présenta une légère coloration jaune. L'examen spectral nous révéla la bande caractéristique de l'urobiline. Par addition de chlorure de zinc ammoniacal, nous avons pu constater l'influence.

2° L'urine de 24 heures ainsi traitée ne nous a donné aucun résultat.

Nous sommes donc fondé à considérer l'urochrome, s'il existe, comme étant un pigment intermédiaire entre l'urobilinogène et l'urobiline mais notre opinion personnelle est que l'urochrome de THUDICHUM, de GAUTIER n'est que de l'urobiline ou plutôt de l'urobilinogène.

7. — *Uriane.*

HÉROCQUE nous donne pour la préparation de ce pigment un procédé qui se rapproche beaucoup de celui employé par RABUTEAU pour la préparation de son uroérythrine. Pour les raisons données plus

haut, nous considérons que ce procédé ne peut donner qu'un produit souillé par l'indigo urinaire, et que le pigment ainsi obtenu ne peut à aucun titre être considéré comme préexistant dans l'urine.

8. — *Pigment rouge de Giacosa.*

Cette matière colorante, isolée par GIACOSA, se rapprocherait des pigments sanguins par la présence de notables quantités de fer dans sa molécule. Elle a été obtenue de la façon suivante : l'urine précipitée par l'acétate de plomb est filtrée et débarrassée de son excès de plomb par un courant d'hydrogène sulfuré.

On chasse l'hydrogène sulfuré par l'ébullition, et, après refroidissement, la solution est additionnée de presque son volume d'acide chlorhydrique de densité 1,19. Le mélange, devenu rose, est agité avec de l'alcool amylique, qui se colore en rouge-rubis : on décante la liqueur amylique au bout d'une heure ; on lave à l'eau pour enlever l'acide, et on distille l'alcool amylique. Le résidu est lavé à l'eau tiède et à l'eau ammoniacale, séché, et traité par l'alcool et l'éther absolus. L'éther est évaporé, le résidu est lavé à l'eau faiblement ammoniacale, puis à l'eau pure, et repris par l'éther.

L'on obtient alors une masse brune qui peut cristalliser. Ses solutions sont dépourvues de bandes d'absorption.

Cette matière colorante, d'après GIACOSA, laisserait 0 gr. 45 pour cent. de cendres dont la plus grande partie serait de l'oxyde de fer.

Nous avons répété cette préparation, et obtenu un pigment qui ne nous a pas donné de traces de fer. Ce résultat ne nous a pas étonné, car le pigment rouge de GIACOSA est identique à l'indirubine et doit être rangé dans la série des pigments résultant de l'oxydation des *indoxyles*. Son mode de préparation le range d'ailleurs nettement dans cette catégorie de corps.

9. — *Purpurine de Golding-Bird.*

Ce pigment est l'analogue de celui décrit sous le nom d'*uroérythrine*. Nous ne pouvons le considérer comme physiologique.

10. — *Urrhodine de Heller*

Ce pigment est analogue à l'indirubine impure. Il doit donc être considéré comme dérivant du chromogène indoxylique, et non pas comme ayant une individualité propre. Sa présence est provoquée par les réactions de sa préparation.

11. — *Uroroséine.*

Ce pigment, nous dit ROSIN (1), est une matière rouge qui se montre lorsqu'on chauffe l'urine avec de l'acide azotique pour la recherche de l'albumine. HELLER l'appelle « *urophéine* ». Enfin NENCKI et SIE-

(1) ROSIN. Ein Beitrag zur Lehre von den Harnfarbstoffen. *Deuts. mediz. Wochenschrift.* 1893.

BER nous donnent le procédé suivant pour sa préparation : l'urine est additionnée d'un acide minéral pur, acide chlorhydrique, azotique, phosphorique, (sauf l'acide chromique) et portée à l'ébullition. Lorsque la coloration rouge est bien développée, l'on extrait par l'alcool amylique, lave aux alcalis puis à l'acide, et l'on reprend finalement par l'alcool amylique.

Le pigment obtenu est un corps à fonction acide, soluble dans l'eau, les acides minéraux étendus, beaucoup d'acides organiques, l'alcool éthylique, l'alcool amylique ; insoluble dans l'éther, le chloroforme, le benzène, le sulfure de carbone, l'éther acétique.

L'alcool amylique l'enlève à sa solution aqueuse.

L'urorosséine formerait avec les alcalis des sels neutres incolores solubles dans l'eau, l'alcool, l'éther, le chloroforme.

En solution, ce pigment donnerait une bande obscure dans le vert entre D et E.

Le procédé de préparation employé par NENCKI et SIEBER, loin de nous isoler un pigment, nous livre une matière colorante, dont la genèse doit être ainsi expliquée, selon nous ; dans une première phase, l'oxydation provoquée par l'acide minéral fort en présence de l'air décompose les indoxylsulfates et donne de l'*indigo*, puis cette oxydation, activée par l'ébullition, provoque la formation d'*isatine*. Le produit que nous avons obtenu par le procédé indiqué présente bien des rapports avec l'*isatine*, et, si NENCKI et SIEBER ont prétendu que leur pigment est différent de l'indigotine et de l'indirubine, c'est avec raison, car non seulement leur réaction a décomposé

les indoxylsulfates, mais elle a même dépassé le *stade indigotine pour arriver à la production d'isatine*.

L'uroséine de NENCKI et SIEBER n'est donc pas un pigment préformé, dans l'urine, c'est ce que nous pensons avoir démontré.

12. — *Urocyanine*

Cette matière colorante décrite par COTTON (1) en 1898 se rattache également aux produits d'oxydation des indoxylsulfates de l'urine.

13. — *Omicholine de Thudichum*.

THUDICHUM a extrait de l'urine deux pigments nommés par lui omicholine et acide omicholique, en donnant une bande d'absorption entre D et E. Ils n'ont malheureusement aucun caractère net qui caractérise des produits définis.

(1) COTTON. L'urocyanine. *Bull. pharmac. de Lyon*, 1898.

CHAPITRE IV

Chromogènes des pigments urinaires.

Si l'on dose l'*urobiline* contenue dans une urine au moment de son émission, puis 24 heures après, l'on constate que les résultats trouvés sont très différents : par l'exposition à l'air et à la lumière, il s'est formé une nouvelle quantité d'urobiline aux dépens d'un *chromogène* primitivement incolore ; c'est l'*urobilinogène*. Les chromogènes de ce genre n'ont, bien entendu, pas d'action sur le spectre visible et la spectroscopie ne peut déceler que leurs dérivés colorés.

1. — *Urobilinogène*

Le meilleur procédé de préparation est celui de WINTER. L'urine est saturée de son poids de sulfate d'ammoniaque et filtrée ; l'on sépare par filtration les principes pigmentaires ainsi précipités ; on dessèche la masse, puis on la lave sur filtre avec de l'éther.

La solution éthérée renferme l'urobiline et son chromogène. On agite avec de l'eau qui dissout l'urobiline, et son chromogène reste en solution éthérée. Par évaporation, on concentre la liqueur.

Si l'on traite par quelques gouttes d'acide azotique le produit obtenu, l'on a une solution colorée qui donne la bande caractéristique de l'urobiline.

En opérant ainsi sur des urines fraîchement émises, nous avons cherché à déterminer le rapport entre l'urobiline préformée dans l'urine et l'urobilinogène. Nous avons trouvé que ce rapport était essentiellement variable, quoiqu'oscillant autour de $1/3$.

Dans les cas pathologiques, nous avons généralement constaté une augmentation de l'urobiline préformée par rapport au chromogène ; mais ces faits sont inconstants et sans aucune utilité au point de vue clinique.

2. — *Urochromo-érythro-roséinogène.*

Ce chromogène, considéré par SCHMITT comme donnant naissance à l'urochrome, est apprécié différemment par GAUTRELET. Pour ce dernier auteur, il existe dans toute urine normale un chromogène différent de l'urobilinogène, donnant, par oxydations successives, de l'urochrome, puis de l'uroérythrine, puis de l'uroroséine, et enfin de l'urobiline.

Nous donnons le procédé de préparation recommandé par GAUTRELET. L'urine est saturée de son poids de sulfate d'ammoniaque et additionnée de son volume d'alcool fort. L'alcool est séparé, et l'urine restante est filtrée et agitée avec de l'alcool amylique. Cet alcool, séparé et évaporé, abandonne l'urochromogène sous forme d'un liquide incolore qui jaunit rapidement à l'air et à la lumière.

L'action des oxydants fait apparaître rapidement le pigment, qui présente successivement au spectroscopie les 2 bandes attribuées par GAUTRELET à l'uroérythrine et une bande attribuée à l'urorosséine.

Ce procédé nous a donné une dissolution qui, oxydée avec ménagement, a présenté la bande caractéristique de l'urobiline et celle de l'indigotine urinaire.

Par oxydation plus énergique, l'on n'obtenait plus de bandes, mais une absorption des extrémités du spectre. Nous considérons donc ce chromogène comme n'étant qu'un mélange d'urobilinogène et du chromogène générateur de l'indigo urinaire. La présence de la bande de l'urobiline indique bien qu'il y avait là de l'urobilinogène. Quant aux indoxylsulfates, oxydés faiblement, ils donnaient de l'indigo dont nous apercevions la bande ; mais ensuite nous avions de l'*isatine* qui absorbait les extrémités du spectre.

3. — *Indoxyle.*

Ce chromogène est, avec l'urobilinogène, le seul que nous considérions comme présent dans toutes les urines normales. Ce n'est que récemment que son pigment dérivé, l'*indigotine*, a été reconnu comme pouvant être extrait des urines les plus normales. Le pigment bleu, appelé encore indican par la presque généralité des auteurs, avait été considéré comme tout à fait pathologique.

Nous pensons que l'ignorance où étaient beaucoup d'auteurs à ce sujet, les a conduits à des résultats

erronnés dans leurs recherches sur les pigments urinaires. C'est pour cette raison que, dans le cours de cette étude, nous avons toujours considéré comme défectueux les procédés d'extraction des pigments urinaires qui employaient le chloroforme, après oxydation à l'air en présence d'un acide. Nous verrons, en effet, dans la suite, que le meilleur procédé de préparation de l'indigo urinaire est justement l'épuisement chloroformique après oxydation.

Nous dirons dès maintenant que les résultats les plus importants sur l'indigotine sont dus aux travaux récents de L.-C. MAILLARD (1) : nous les résumerons à leur place.

Il y a très longtemps que les auteurs ont constaté dans les urines la présence d'un *pigment bleu*, faisant son apparition dans certains cas morbides.

Vers 1790, BRUGNATELLI, traitant l'urine par un acide et des sels de fer, obtient un précipité bleu qu'il prend pour du bleu de Prusse : c'était certainement de l'indigotine (2).

En 1845, HELLER extrait un chromogène qu'il nomme uroxanthine, lequel, dit-il, se transforme en pigment bleu, l'uroglaucine, et en pigment rouge, l'urrhodine. Il en fait le pigment caractéristique du foie malade.

En 1853, CARTER (3) signale la présence de l'indican dans le sang. Vingt-deux ans après, NEUBAUER et VOGEL l'extrait des urines, et sont les premiers à considérer le chromogène de l'indigo comme étant normal.

(1) *L'indoxyle urinaire*. Paris, 1903.

(2) Cité par MAILLARD.

(3) *Edimburg médical Journal*. 1853.

En 1878, ORD (1) constate dans la vessie des calculs dus à l'*indican*.

En 1900, COTTON isole un pigment bleu qu'il nomme urocyanine et qui n'est que de l'indigotine impure. Enfin, dans ces dernières années, les recherches de MAILLARD viennent donner à cette question un grand caractère de précision.

Les premiers auteurs n'ont pas cherché à isoler la matière colorante et se sont seulement préoccupés de sa recherche qualitative. Nous allons mentionner les différents procédés d'analyse ou de préparation qui ont été successivement employés.

A. — PROCÉDÉ DE HELLER

L'urine est simplement chauffée à l'air en présence d'un acide minéral fort, et l'on se contente d'observer la coloration plus ou moins violette qui se produit alors.

B. — PROCÉDÉ DE SCHUNK

SCHUNK essaie d'isoler le pigment de la manière suivante : il précipite l'urine par le sous-acétate de plomb, puis filtre. Le filtratum est additionné d'ammoniaque, puis neutralisé par l'acide sulfurique ; l'indigotine se précipite.

Cette dernière affirmation nous surprend, puisque l'on sait que l'indigotine se dissout très bien dans l'acide sulfurique.

(1) *British medic. Journal*. 28 juillet, 1878.

C. — PROCÉDÉ DE KLENZINSKY

L'urine est déféquée au sous-acétate, filtrée, et l'excès de plomb, éliminé par un courant d'hydrogène sulfuré. La solution est évaporée au tiers de son volume primitif et additionnée de son poids d'acide chlorhydrique concentré. On laisse reposer quelques jours. A la surface du liquide, il se forme rapidement des lamelles irisées, ou bien il se dépose un précipité noir que l'on traite par l'éther pour enlever la *cirrrodine rouge*. Le résidu est dissous dans l'alcool bouillant qui, par refroidissement, laisse déposer de petits cristaux d'un noir bleu.

D. — PROCÉDÉ DE JAFFÉ

L'urine, traitée par son volume d'acide chlorhydrique, est additionnée d'hypochlorite de calcium ou d'un autre oxydant. Il se développe une coloration violette plus ou moins intense. Par le repos, l'indigotine se dépose, et peut être recueillie par filtration.

E. — PROCÉDÉ D'OBERMAYER

OBERMAYER, suivi par beaucoup d'auteurs, emploie comme oxydant une solution de chlorure ferrique dans l'acide chlorhydrique. Il fait la recherche du pigment après avoir précipité l'urine par le sous-acétate de plomb. Nous nous arrêterons plus longtemps au procédé suivant, qui nous semble tout à

fait précis pour la préparation de l'indigotine urinaire.

F. — PROCÉDÉ DE MAILLARD

Ce procédé repose sur l'oxydation de l'urine en présence de l'air, après *défécation au sous-acétate de plomb*, puis extraction par le *chloroforme*. La masse pigmentaire ainsi obtenue est constituée par trois pigments, *un bleu, un rouge, un brun*, qui ont tous trois pour origine les INDOXYLSULFATES. En opérant convenablement, l'on n'obtient que les deux premières matières colorantes, l'indigotine et l'indirubine.

L'urine est traitée par le dixième de son volume de la solution de sous-acétate de plomb du *codex*. On filtre et on additionne le filtrat d'un égal volume d'acide chlorhydrique pur concentré. L'opération doit se faire dans une boule à décantation, de capacité telle, qu'il reste au moins, au-dessus du liquide, un tiers de la boule occupé par l'air. On verse 100 cent. cubes de chloroforme et on agite très violemment pendant quelques minutes de manière à émulsionner finement le chloroforme, l'air et le liquide aqueux.

On laisse se rassembler le chloroforme, ce qui se fait presque instantanément et on soutire. On ajoute une nouvelle portion de chloroforme et on recommence l'opération tant que le dissolvant se charge de couleur. On peut enfin, si l'on veut ajouter avec beaucoup de ménagement quelques gouttes d'eau oxygénée diluée à 1/10, et faire s'il y a lieu, un dernier épuisement.

L'ensemble du chloroforme, réuni, est filtré et soigneusement séparé, dans un entonnoir à robinet, de la partie aqueuse.

A ce moment, *la rapidité de l'opération dépend de la proportion d'indigotine et d'indirubine qu'on veut obtenir*. Si l'on cherche surtout l'indigotine il faut *se hâter* de faire les lavages avec toute la diligence possible ; si on veut surtout avoir l'indirubine, on abandonne le chloroforme pendant quelques jours, jusqu'à ce qu'il ait pris la teinte convenable. L'instant du premier lavage alcalin fixe irrévocablement la proportion des deux couleurs.

Au moment voulu, le chloroforme est agité violemment avec de l'eau distillée, qui se colore légèrement en brun rougeâtre et prend une réaction acide. On décante le chloroforme, et on renouvelle l'eau jusqu'à ce que la réaction ne soit plus acide. On a soin de filtrer le chloroforme à la dernière décantation.

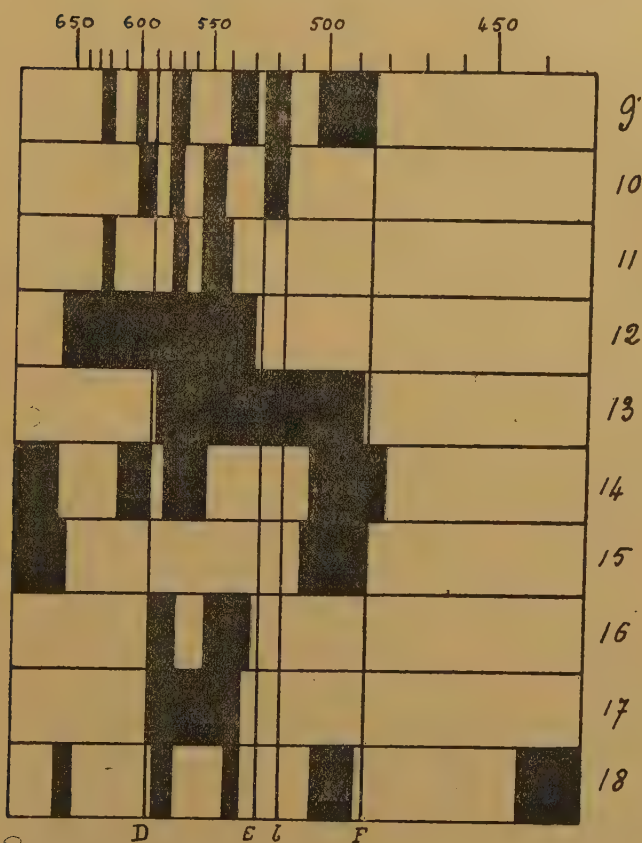
Alors on passe au lavage alcalin, et, dans le cas où l'on veut l'indigotine, on doit précipiter toute l'opération jusqu'à ce premier lavage inclusivement. La solution alcaline est une dissolution aqueuse de soude à 4 pour 1000.

On fait quatre ou cinq lavages à l'eau alcaline, on filtre le chloroforme qu'on lave à l'eau distillée jusqu'à disparition complète de l'alcali ; on filtre et on sépare exactement les dernières traces d'eau.

Le chloroforme est alors distillé doucement au bain-marie. Le résidu est uniquement composé d'indigotine et d'indirubine, qu'il s'agit de séparer.

Dans ce but, l'extrait est mis à digérer dans l'éther, et y séjourne : l'éther se charge d'indirubine

PLANCHE II. — 10 SPECTRES



- Légende
- 9. — Urospectrine.
 - 10. — Urospectrine acide.
 - 11. — Urospectrine alcaline.
 - 12. — Indigotine (Parmentier).
 - 13. — Indirubine (Parmentier).
 - 14. — Réaction de Gmelin solution bleue (Parmentier).
 - 15. — Réaction de Gmelin solution rouge (Parmentier).
 - 16. — Oxyhémoglobine.
 - 17. — Hémoglobine réduite.
 - 18. — Hématine acide.

qui le colore en rouge. L'éther est séparé par filtration. Le même traitement est recommencé un grand nombre de fois. Les résidus étherés sont de l'indirubine pure.

L'on n'obtient ainsi que des quantités *extrêmement* faibles de pigment.

L'indigotine ainsi préparée est identique à l'indigotine végétale de l'indigo Bengale, à l'indigotine de synthèse par l'acide ortho-nitrophénylpropiolique réduit au moyen du glucose et du carbonate de soude, à l'indigotine de synthèse par l'acide phénylglycine-orthocarboxylique. C'est un solide bleu foncé, pulvérulent, qui, par compression, prend des reflets cuivrés.

L'indigotine humaine est parfaitement insoluble dans l'eau, dans l'eau acidulée et l'eau alcaline. Elle est presque insoluble dans l'éther. L'alcool en dissout une très petite quantité. Le chloroforme est le meilleur dissolvant. Elle est soluble dans le phénol, l'aniline, la paraffine. Examinées au spectroscope les solutions chloroformiques d'indigotine ne laissent passer que la région moyenne du rouge, le vert, le bleu et une partie du violet.

L'acide azotique concentré transforme à chaud l'indigotine en acide picrique.

L'indirubine humaine, semblable en tous points à l'indirubine de synthèse, est une masse rouge-foncé, qui peut cristalliser.

Elle est insoluble dans l'eau pure, ou acide, ou alcaline. Elle se dissout bien dans l'alcool, l'éther, le chloroforme.

L'acide nitrique l'oxyde, et la transforme en isatine, puis acide picrique.

La solution d'indirubine absorbe les radiations lumineuses entre D et F.

EXPÉRIENCES PERSONNELLES. — Nous nous sommes adressé pour la préparation de l'indigotine et de l'indirubine au procédé de MAILLARD, qui nous semble être le dernier mot en matière d'isolement de l'indigo urinaire. Malheureusement, la petite quantité et la difficulté de préparation du produit ne nous a pas permis de terminer encore nos recherches. Nous espérons, en effet, trouver un procédé de dosage spectral de ce pigment, mais le manque de matière colorante nous a forcé d'interrompre nos recherches à ce sujet.

Les solutions d'indigotine et d'indirubine nous ont donné les résultats spectraux suivants :

1°. INDIGOTINE EN SOLUTION CHLOROFORMIQUE : Absorption du *rouge* et du *violet* extrêmes.

Une bande d'absorption, dont les limites sont $L = 658$ et $L = 529$, c'est-à-dire masquant presque tout l'*orangé*, le *jaune* en totalité, et une très faible portion du *vert*. En augmentant l'épaisseur, cette bande augmente notablement d'intensité. A un certain moment, l'on aperçoit même une deuxième bande très peu intense dans le *violet*, mais le manque de matière colorante ne nous a pas permis d'employer de grandes épaisseurs de liquide. (1)

2°. INDIRUBINE EN SOLUTION ÉTHÉRÉE ou chloroformique : Une bande d'absorption, dont les limites sont $L = 587$ et $L = 486,5$ c'est-à-dire absorption

(1) Voir PLANCHE II, n° 12.

d'une partie du *jaune*, de tout le *vert*, et d'une très faible portion du *bleu* (1).

Cette bande nous a paru bien pâle, mais cela tient à la faible quantité de matière colorante contenue dans la solution.

En opérant suivant la méthode d'OBERMAYER, c'est-à-dire en oxydant au moyen du chlorure ferrique en solution chlorhydrique, nous avons obtenu un produit qui absorbait beaucoup les extrémités du spectre : et, en laissant se continuer longtemps l'oxydation, la solution colorée ne laissait plus passer que le rouge moyen, ce qui indiquait la présence d'une quantité notable d'isatine.

Ce fait spectral corrobore bien les théories de MAILLARD, qui considère les oxydants énergiques comme dépassant le but proposé et amenant la production d'une certaine quantité d'ISATINE.

(1) Voir PLANCHE II, n° 13.

CHAPITRE V

Spectroscopie des matières colorantes des urines pathologiques.

Les principaux pigments pathologiques constatés dans l'urine sont :

LES PIGMENTS BILIAIRES.

L'HÉMOGLOBINE.

LA MÉTHÉMOGLOBINE.

L'HÉMATINE.

LA MÉLANINE.

L'HÉMATOPORPHYRINE.

Nous rangeons ici l'*hématoporphyrine*, quoique considérant cette matière colorante comme présente dans les urines normales. Ce n'est, en effet, que dans les urines pathologiques, qu'elle se montre avec abondance.

Quant à la *mélanine*, nous ne pûmes l'étudier, n'ayant jamais eu en notre possession les urines de sujets atteints de cancer mélanique.

1. — Pigments biliaires.

Les pigments biliaires peuvent se trouver dans les urines à différents états d'oxydation : *bilirubine*, *biliverdine*, *cholécyanine* ; mais la bilirubine étant le pigment fondamental, c'est elle que nous envisagerons ici. Les urines contenant de la bilirubine sont d'une couleur variant du jaune-rouge au rouge-acajou foncé.

La bilirubine ne présente pas, par elle-même, de spectre caractéristique. Les solutions éteignent plus ou moins les extrémités du spectre ; mais une de ses réactions caractéristiques, la réaction de GMELIN, offre un spectre tout particulier.

Si l'on verse dans de la bile, ou dans une solution de bilirubine, un peu d'acide azotique nitreux, en ayant soin de ne pas mélanger les deux liquides, l'on voit apparaître à la surface de séparation une série d'anneaux colorés dont la superposition est la suivante : *vert, bleu, violet, rouge, jaune*. Au bout de quelque temps, la couleur jaune subsiste seule. Ces diverses colorations correspondent à des degrés successifs d'oxydation de la bilirubine, et présentent des spectres différents. Cette étude spectrale a été faite notamment par JAFFÉ, STOKVIS, MAC-MUNN, BOGOMOLOFF.

A. — RECHERCHES DE JAFFÉ.

La solution biliaire est acidifiée jusqu'à production du bleu-violet. La solution laisse alors apercevoir deux bandes d'absorption de part et d'autre de D.

Ce pigment bleu peut être isolé. Pour cela, l'on agite avec du chloroforme et de l'eau : on décante le chloroforme, on filtre, puis on évapore. Le résidu est repris plusieurs fois par du chloroforme. La substance obtenue a une couleur violette : elle est insoluble dans l'eau, mais soluble dans le chloroforme, l'éther, l'alcool. Les solutions neutres ne montrent pas de bandes ; mais la moindre trace d'acide fait apparaître, en plus des deux bandes déjà mentionnées, une troisième bande dans le *vert*, que JAFFÉ identifie avec la raie caractéristique de la matière colorante de l'urine.

B. — RECHERCHES DE STOKVIS

STOKVIS étudie spécialement les caractères de la bilicyanine. Les solutions sont vert-bleu avec une fluorescence rouge.

Les solutions neutres ou alcalines donnent un spectre à trois bandes : la première, dans le *rouge*, entre C et D, la deuxième, occupant la place de D et la troisième dans le *vert* près de F.

Les solutions acides montrent les deux bandes mentionnées par JAFFÉ.

C. — RECHERCHES DE MAC-MUNN

MAC-MUNN a recherché les caractères spectraux des colorations bleue, rouge, jaune.

1° Coloration bleue : 3 bandes. Les deux premières sont situées à droite et à gauche de D, et la troisième, très foncée, est placée entre *b* et F.

2° Coloration rouge : 2 bandes, l'une à gauche de D, et l'autre à gauche de F.

3° Coloration jaune : 1 bande à gauche de F.

D. — RECHERCHES DE BOGOMOLOFF

La bile est oxydée jusqu'à production de la teinte bleue et l'on dissout cette dernière dans l'alcool. Par addition de quelques gouttes d'acide azotique fumant l'on aperçoit une bande dans le *bleu* et une faible raie devant D.

Si l'on continue l'oxydation, la coloration indigo donne une bande en D et en F.

La coloration violette renforce la bande en D et montre également la bande située près de F:

E. — RECHERCHES PERSONNELLES

En oxydant les pigments biliaires au moyen de l'acide azotique nitreux, nous avons obtenu les résultats suivants.

1° COLORATION BLEUE (1) : Le *rouge* est absorbé depuis son extrémité gauche jusqu'à $L = 680$, et le *violet*, à partir de $L = 460$. L'on observe en outre trois bandes : la première a pour limites $L = 625$ et $L = 589$; elle affleure donc exactement la raie du sodium. La deuxième, peu accentuée, a ses bords situés en $L = 570$ et $L = 560$. La troisième, large et bien obscure, a pour limites $L = 522$ et $L = 479,5$.

2° COLORATION VIOLETTE : Les extrémités du spectre sont toujours absorbées et l'on ne voit plus que 2

(1) Voir PLANCHE II, N° 14.

bandes, l'une limitée par $L=620$ et $L=589$, et l'autre, par $L=522$ et $L=480$.

3° COLORATION ROUGE (1) : la première des deux bandes précédentes est très peu apparente ; la seconde persiste.

4° COLORATION JAUNE : une seule bande, limitée par $L=522$ et $L=495,5$.

En somme, l'oxydation fait disparaître successivement deux bandes et l'on remarquera, que la seule qui persiste n'est pas loin de la bande caractéristique de l'urobiline.

F. — RÉACTION DE CAPRANICA.

CAPRANICA emploie comme oxydant l'eau de brome. L'urine est acidulée, puis agitée avec un mélange de chloroforme et d'éther à parties égales. L'on verse le réactif, et l'on obtient une coloration vert-émeraude, qui passe ensuite au bleu, au violet, au jaune.

1° Coloration verte : pas de spectre.

2° Coloration bleue : une bande dans le *rouge*.

3° Coloration violette : 2 bandes, l'une dans le *rouge*, l'autre dans l'*indigo*.

4° Coloration jaune : une bande dans l'*indigo*.

La réaction de CAPRANICA ne nous paraît pas présenter d'avantages sur celle de GMELIN. Elle est certainement beaucoup moins sensible.

(1) Voir PLANCHE II. N° 15.

2. — *Hémoglobine.*

Nous parlerons ici de ce qui a trait seulement à la présence dans l'urine de la matière colorante du sang. Le spectre de l'oxyhémoglobine est tout à fait caractéristique et permet de reconnaître dans les urines des quantités extrêmement faibles de matière colorante.

Les spectres des solutions d'oxyhémoglobine varient essentiellement avec l'épaisseur ou la concentration.

Lorsqu'on examine sous une faible épaisseur une solution étendue d'oxyhémoglobine, l'on aperçoit une bande obscure à droite de D, ayant pour limites $L=585$ et $L=568$. En augmentant l'épaisseur de la couche liquide, apparaît une deuxième bande plus large, ayant pour limites $L=550$ et $L=530$ (1). C'est ce dernier aspect spectral qui doit être considéré comme caractéristique de l'oxyhémoglobine. En augmentant petit à petit l'épaisseur, les deux bandes s'élargissent et se rapprochent, puis se confondent. En même temps, les deux extrémités du spectre se sont éteintes, de sorte que l'on ne voit plus finalement qu'une très mince bande du rouge.

L'oxyhémoglobine peut-être recherchée directement dans l'urine, qu'il s'agisse d'hémoglobinurie ou d'hématurie ; il faut avoir soin d'opérer sur des urines assez fraîches, surtout l'été, car la putréfaction transforme l'oxyhémoglobine en *hémoglobine réduite*, dont les caractères spectraux sont bien différents.

(1) Voir PLANCHE II. N° 16.

Lorsque l'urine ne contient qu'une proportion infinitésimale d'oxyhémoglobine, il est utile d'isoler la matière colorante. Deux procédés sont à recommander :

1° On chauffe au bain-marie 50 centi. cubes d'urine avec 5 centi. cubes d'une solution à 3 pour 100 d'acétate de zinc. Le précipité est ensuite dissous dans l'ammoniaque.

2° Les traces d'oxyhémoglobine sont précipitées par une solution de tungstate de sodium contenant une forte quantité d'acide acétique. On filtre, et le pigment est dissous sur filtre dans de l'ammoniaque étendue. La solution donne les raies caractéristiques de l'oxyhémoglobine.

L'hémoglobine réduite ne donne qu'une bande dont les limites sont $L = 594$ et $L = 540$ (1).

Lorsqu'on augmente l'épaisseur, cette bande s'élargit beaucoup, et l'effet spectral maximum est obtenu lorsqu'il ne passe plus qu'un peu de rouge et de vert, les autres radiations étant absorbées.

Lorsque la quantité d'hémoglobine est très faible il y a intérêt à transformer en oxyhémoglobine par agitation en présence de l'air, les bandes de cette dernière substance étant beaucoup plus visibles.

3. — Méthémoglobine

Il faut chercher la méthémoglobine dans les urines de sujets soumis à l'action de fortes doses de *trional*, de *sulfonal*, de *Kaïrine*, etc.

L'on peut souvent déceler dans l'urine totale les

(1) Voir PLANCHE II, n° 17.

caractères spectraux de la méthémoglobine, mais il est généralement préférable d'isoler la matière colorante par le procédé suivant :

100 cent. cubes d'urine sont additionnés jusqu'à cessation du précipité d'une solution contenant pour 100 parties 2 grammes de baryte et 5 grammes de chlorure de baryum. On filtre et on lave à l'eau distillée. Le précipité est mis à digérer avec 20 gouttes d'acide chlorhydrique et 20 cent. cubes d'alcool. La méthémoglobine se dissout dans l'alcool.

Le spectre de la méthémoglobine varie selon la réaction du milieu.

1° MÉTHÉMOGLOBINE ACIDE. Le spectre caractéristique est composé de 4 bandes obscures, dont 2 se confondent avec celles de l'oxyhémoglobine.

- a) limites $L = 640$ et $L = 620$
- b) » $L = 585$ et $L = 568,5$
- c) » $L = 550$ et $L = 529$
- d) » $L = 510$ et $L = 488$

La première bande est de beaucoup la plus nette et la plus obscure.

2° MÉTHÉMOGLOBINE ALCALEINE. L'alcalinité peut être obtenue au moyen de bases fixes ou d'ammoniaque. La solution est alors franchement rouge.

Le spectre n'est plus composé que de trois bandes.

- a) entre $L = 622$ et $L = 588$
- b) » $L = 580$ et $L = 570$
- c) » $L = 550$ et $L = 521,5$

Cette recherche devient plus difficile lorsque la méthémoglobine est mélangée à l'oxyhémoglobine. Il faut alors observer le spectre en solution acide, car, dans ce cas, la bande dans le rouge tranche le diagnostic.

4. — *Hématoporphyrine*

Nous considérons ce pigment comme présent en petite quantité dans l'urine normale, mais ce n'est que dans les urines pathologiques qu'il existe en proportions notables. Nous pensons que l'urospectrine de SAILLET contient surtout de l'hématoporphyrine : il en est de même de la matière colorante que l'on extrait de l'acide urique précipité de l'urine au moyen du chlorure d'ammonium. Enfin l'urobiline fébrile de MAC MUNN, l'uroérythrine de RIVA ne sont que des mélanges contenant de l'urohématoporphyrine.

On a proposé plusieurs procédés d'extraction du pigment. Nous les indiquerons à titre documentaire.

A. — PROCÉDÉ DE GARROD

Un litre d'urine est additionné de 200 cent. cubes de solution de soude à 10 pour 100. Le précipité est recueilli sur filtre et lavé. On le traite par de l'alcool fortement additionné d'acide chlorhydrique. Après avoir examiné cette solution au spectroscope, et obtenu le spectre de l'hématoporphyrine acide on alcalinise avec de l'ammoniaque, on redissout les phosphates par addition d'acide acétique et l'on épuise par le chloroforme. La solution chloroforme

mique présente alors le spectre à quatre bandes de l'hématoporphyrine alcaline, et parfois aussi celui de l'urobiline.

B. — PROCÉDÉ DE SALKOWSKI

D'après GARROD, cette méthode est préférable lorsqu'il s'agit d'urines très riches en pigment.

Trente centimètres cubes d'urine sont additionnés d'une solution alcaline de chlorure de baryum jusqu'à cessation du précipité. On filtre, et lave plusieurs fois le précipité à l'eau et à l'alcool. On laisse sécher, et la masse est triturée avec très peu d'un mélange à parties égales d'alcool absolu et d'acide chlorhydrique.

C. — PROCÉDÉ DE HAMMARSTEN

L'urine est précipitée par une dissolution d'acétate de baryum, puis, alternativement, par de l'acétate de baryum et du carbonate de sodium en dissolution, jusqu'à ce que le précipité ne soit plus coloré en rouge. Les précipités sont lavés à l'eau, séchés à l'air, puis épuisés par de l'alcool à 5 pour 100 d'acide chlorhydrique, et l'extrait obtenu, additionné d'eau, est épuisé par le chloroforme, qui dissout le pigment.

Le procédé de HAMMARSTEN nous paraît être le meilleur pour l'isolement de l'urohématoporphyrine. Nous en proposons une variante : l'épuisement se fait par l'éther acétique en plusieurs fois. Le dissolvant est évaporé et le résidu, dissous dans l'acide acétique cristallisable. Par évaporation de cet acide,

il se dépose de petits cristaux foncés, qu'on dissout dans le chloroforme ou l'acétate d'éthyle.

Dans l'urine normale, l'on ne trouve la matière colorante qu'à condition d'opérer sur un grand volume.

Nous avons ainsi préparé une solution, dont les caractères spectraux variaient avec la réaction.

1° HÉMATOPORPHYRINE EN SOLUTION ACIDE. — Spectre à trois bandes ainsi repérées (1) :

- a) de $L=599,5$ à $L=588$
- b) de $L=576$ à $L=565,5$
- c) de $L=558$ à $L=539,2$

La dernière bande a les limites les plus nettes.

2° HÉMATOPORPHYRINE ALCALINE. — Spectre à quatre bandes (2) :

- a) de $L=623$ à $L=614,5$
- b) de $L=597$ à $L=558$
- c) de $L=541$ à $L=526,5$
- d) de $L=512$ à $L=490$

Cette dernière bande est mal limitée du côté du violet extrême, et son bord se confond dans l'obscurité de cette région spectrale.

3° HÉMATOPORPHYRINE NEUTRE. — Ce spectre est difficile à obtenir pur. Il faut se servir d'une hémato-porphyrine qui n'a pas été soumise à des réactions diverses.

(1) Voir PLANCHE III. N° 19.

(2) Voir PLANCHE III. N° 20.

L'on observe alors un spectre à cinq bandes (1) :

- a)* de $L=626$ à $L=620$
- b)* de $L=617$ à $L=612$
- c)* de $L=578$ à $L=552,5$
- d)* de $L=541$ à $L=520,5$
- e)* de $L=512$ à $L=482$

Cette dernière bande est toujours très indécise et son bord est difficile à repérer exactement.

(1) Voir PLANCHE III. N° 21.

CHAPITRE VI.

Analyse quantitative des matières colorantes de l'urine normale ou pathologique.

Nous allons dans ce chapitre passer en revue les différents procédés des pigments urinaires normaux ou anormaux, en nous attachant spécialement à ceux qui s'appuient sur des phénomènes spectraux.

1. — *Dosage de l'urobiline.*

A. — PROCÉDÉ DE VIGLEZIO (1)

VIGLEZIO extrait l'urobiline par le procédé que nous avons décrit, puis dissout le pigment dans une quantité d'alcool égale à la prise d'essai de l'urine, soit, généralement, 300 cent. cubes. La solution est placée dans une burette de MOHR divisée en centièmes de cent. cube.

On met ensuite dans une petite cuvette contenant 10 cent. cubes d'alcool à 60°, deux gouttes d'ammoniaque et deux gouttes d'une solution de chlorure de zinc, à 1 ou 2 %. On y fait alors écouler la solution d'urobiline, jusqu'à ce que l'on puisse constater l'apparition de la fluorescence dans la

(1). Cité par HENOCQUE.

petite cuvette, et on note la quantité de la solution en laissant encore écouler du liquide, on peut constater l'apparition de la bande entre *b.* et F. Ces deux chiffres servent à déterminer la quantité d'urobiline d'après une formule établie par VIGLEZIO au moyen d'urobiline de JAFFÉ à 1 pour 100.

Pour obtenir la fluorescence, il a employé, par exemple, 0cc.,05 de la solution, et pour la production de la bande caractéristique 0 cc. 17. La formule arithmétique est simple, *x* désignant la quantité d'urobiline contenue dans les 300 centi. cubes d'urine, et *n* le nombre de centièmes de centimètres cubes nécessaires pour l'obtention de la bande, la quantité d'urobiline contenue dans la solution est donnée par :

$$x = \frac{0,17}{n}$$

Ce procédé de dosage nous paraît tout à fait défectueux. Le phénomène de la fluorescence est difficile à saisir à son début, et son apparition plus ou moins rapide, dépend essentiellement des conditions expérimentales : dilution, température. D'autre part, l'équation personnelle y joue un trop grand rôle.

B. — PROCÉDÉ DE SALKOWSKI.

L'urine est épuisée par l'éther à plusieurs reprises et la solution obtenue est titrée par comparaison avec des liqueurs contenant des quantités connues de pigment.

C. — PROCÉDÉ DE LEFÈVRE.

LEFÈVRE extrait l'urobiline par le procédé de préparation dont il est l'auteur, et étend la solution obtenue jusqu'à égalité de teintes avec un étalon connu.

Les procédés Bet C méritent à notre avis le même reproche que la méthode de VIGLEZIO.

D. — PROCÉDÉ DE BOGOMOLOFF.

Nous mentionnons seulement ce procédé, qui est basé sur la fonction *acide* de l'urobiline. Le pigment est titré avec la solution centinormalé de soude, puis, comme contrôle, une prise d'essai égale au volume employé primitivement est traitée par le sulfate de cuivre et épuisée au chloroforme. Cette nouvelle solution est traitée comme précédemment. Au moment précis de l'alcalinisation, le liquide passe du rouge au vert. Nous nous trouvons encore en présence d'un phénomène dont l'apparition dépend essentiellement de conditions étrangères.

E. — PROCÉDÉ DE GAUTRELET.

Ce procédé est uniquement basé sur la spectroscopie, et donne de meilleurs résultats que les précédents.

GAUTRELET se sert d'un appareil spécial, dont il est l'auteur, et dont nous allons donner une description sommaire.

L'« UROPIGMENTOMÈTRE GAUTRELET » (1) se compose essentiellement d'une cylindrique, haute de 40 centimètres, et fermée à sa partie inférieure par un plan de verre. Un petit spectroscope à vision directe plonge dans cette cuve. Il est réuni par une potence à une crémaillère. Le tout est éclairé par en-dessous au moyen d'un miroir. Le spectroscope, s'élevant ou s'abaissant au moyen d'un bouton, permet de circonscrire entre sa paroi frontale et la glace de la cuve extérieure des épaisseurs croissantes de liquide.

Le phénomène spectral recherché est l'apparition de la bande caractéristique de l'urobiline.

L'urine à examiner est placée dans la cuve cylindrique après avoir été acidulée par l'acide acétique. L'on fait monter le spectroscope jusqu'à ce que l'on commence à apercevoir la bande de l'urobiline. L'épaisseur de la couche considérée est donnée par la graduation. Une table annexée à l'appareil fait concorder les divisions de l'instrument avec la quantité d'urobiline par litre de l'urine considérée.

Cet appareil est également destiné à doser l'*uroérythrine*, que GAUTRELET considère comme pigment urinaire normal.

L'auteur de ce procédé recommande de se servir toujours de la même source lumineuse.

Ce procédé, qui peut être utile au point de vue clinique par sa rapidité et sa simplicité d'exécution nous semble mériter les critiques suivantes.

(1) GAUTRELET. — *Spectroscopie critique des pigments urinaires normaux*. Paris, 1900.

L'urobiline jouit d'un pouvoir spectral relativement faible, l'urine, d'autre part, n'est pas un composé toujours semblable à lui-même : c'est, en quelque sorte, un produit vivant, qui ne nous présente pas toujours ses matières colorantes dans un état parfaitement stable. Il nous semble de toute utilité de n'opérer que sur un produit qui a été séparé des impuretés qui l'accompagnent.

D'autre part, saisir le début de l'apparition d'une faible bande spectrale, nous paraît chose bien délicate. En effet, l'ombre n'apparaît pas tout d'un coup avec intensité : le phénomène se produit par toute une série de transitions, et, selon la fatigue visuelle, l'on constatera cette apparition à des épaisseurs différentes pour une même solution. Il faut noter également une influence d'ordre psychique. Lorsqu'on guette l'apparition d'une bande spectrale dont on connaît d'avance la situation, on se laisse souvent *suggestionner*, et on la note avant son apparition réelle. Or, dans toute expérience, le devoir de l'observateur est de réduire au minimum les écarts de l'équation personnelle.

F. — PROCÉDÉ DE DENIGÈS

L'urine est additionnée de la moitié de son volume du réactif sulfato-mercurique. Après quelques instants, l'on filtre et l'on introduit le filtratum dans une cuve spectroscopique possédant une épaisseur de deux centimètres. On dilue avec de l'eau distillée cette solution, et on cherche à obtenir une intensité

de la bande spectrale ainsi observée égale à celle donnée par une solution aqueuse d'urobiline pure.

G. — PROCÉDÉ DE L'AUTEUR

Nous avons bien cherché un procédé spectral de dosage de l'urobiline, mais ce pigment, ne possédant qu'une seule bande d'absorption, ne peut se prêter au genre d'analyse que nous avons appliqué au bleu de méthylène, et que nous verrons dans la suite.

Tous les modes opératoires que nous avons essayés laissent une trop grande part à l'erreur par suite d'influences accessoires, et nous nous sommes finalement arrêté au procédé et à l'appareil imaginés par nous, et que nous décrirons sous le nom de « SENSITO-COLORIMÈTRE ». Nous croyons avoir ainsi réduit au minimum les inconnues de l'équation personnelle.

2. — Dosage de l'Urobilinogène

Ce dosage, pour avoir une valeur quelconque, devrait être fait sur l'urine *après chaque émission*.

Le volume d'urine de chaque miction est séparé en deux parties égales. Dans l'une de ces moitiés, l'on isole, puis dose l'urobiline par le procédé que nous indiquons. L'autre moitié est exposée à la lumière pendant quelques heures. A ce moment, tout le chromogène s'est transformé en pigment. On dose alors l'urobiline totale de cette deuxième moitié. La différence des deux dosages indique la proportion d'urobilinogène. Nous ajouterons que ce dosage ne présente actuellement aucun intérêt.

3. — *Dosage de l'urospectrine.*

Voici comment SAILLET comprend le dosage de son urospectrine. 200 cc d'urine sont additionnés d'un même volume d'éther acétique acidulé. Celui-ci est séparé et agité avec une très petite quantité d'eau acidulée par l'acide chlorhydrique, dans laquelle on dose l'urospectrine au moyen du spectroscope, sachant, après expérience, que la plus importante des trois bandes du spectre en solution acide est encore visible sous une épaisseur de 15 millimètres dans une solution à $\frac{1}{22000}$ soit 1 milligramme pour 22 centimè-

tres cubes d'eau. L'apparition du spectre minimum n'est malheureusement pas très exacte. Nous le croyons facilement !

4. — *Dosage de l'Indoxyle.*

A. — PROCÉDÉ DE JAFFÉ.

JAFFÉ traite l'urine de 24 heures par l'eau de chaux en présence de chlorure de calcium, afin d'éliminer les phosphates. L'on concentre en présence de carbonate de sodium, traite par l'alcool, puis l'on filtre. La solution alcoolique est évaporée à sec et le résidu repris par l'eau, est précipité par le chlorure ferrique. On filtre puis, précipite l'excès de fer par l'ammoniaque à l'ébullition. Le liquide filtré est alors oxydé par l'acide chlorhydrique et le chlorure de chaux. L'indigo précipité est recueilli sur un filtre, taré, lavé, séché et pesé.

Ce procédé est réellement mauvais. L'oxydation est trop énergique et fait passer à l'état d'isatine une grande partie de la matière colorante.

B. — PROCÉDÉ DE G. SANDER (1).

L'indigotine est complètement transformée en *isatine* par le procédé suivant : 4 cent. cubes d'urine sont additionnées de 2 cent. cubes d'acide chlorhydrique et de 0,25 cent. cubes de chloroforme, puis on ajoute goutte à goutte une solution de chlorure de chaux à 5 pour 100, jusqu'à ce que la couleur bleue disparaisse. Le nombre de gouttes employées sert de base pour le dosage.

C. — PROCÉDÉ DE OBERMAYER-WANG.

L'urine est précipitée par 1/10 de son volume d'une solution à 10 pour cent d'acétate de plomb. On introduit dans une boule à robinet 50 cent. cubes du filtrat avec le même volume d'une solution de chlorure ferrique dans l'acide chlorhydrique à 3 pour 1000, et l'on agite avec 25 cent. cubes de chloroforme. Le résidu est chauffé avec de l'alcool à 45°, recueilli sur filtre, et dissous dans l'acide sulfurique concentré. On dissout le tout dans l'eau distillée, et l'on titre au permanganate : la fin de la réaction est indiquée par la coloration brune de la liqueur.

Cette méthode mérite le même reproche que les procédés précédents.

(1) Cité par MAILLARD.

D. — PROCÉDÉ DE MAILLARD

Ce procédé est un perfectionnement des méthodes OBERMAYER-WANG et WANG-BOUMA. Il évite l'emploi d'oxydants énergiques. L'indigotine-indirubine est extraite au chloroforme par le procédé indiqué à la préparation de l'indigo urinaire. Lorsque tout le chloroforme est rassemblé, il faut le laver à l'eau distillée jusqu'à ce qu'il ne soit plus acide, puis à l'eau alcaline, et enfin, plusieurs fois à l'eau distillée.

Le chloroforme est distillé et, sur le résidu, on verse environ 10cc d'acide sulfurique pur à 66°. Il est inutile d'employer de l'acide fumant qui produit une oxydation partielle en isatine.

Après 4 heures de contact, la sulfonation est achevée : on verse la solution sulfurique dans 500cc d'eau, et on pratique des lavages du récipient, pour enlever les dernières traces de matière colorante.

On verse du permanganate de potassium titré très étendu, qui fait disparaître à froid le bleu : il reste une teinte rouge qui n'est pas due au permanganate, mais à l'indirubine sulfonée. On chauffe vers 70°. La disparition de tout le rose indique la fin du titrage.

Pour opérer dans de bonnes conditions, il faut que la dilution de l'indigotine soit supérieure à 1 pour 1000. Cette condition est toujours réalisée dans l'analyse des urines, si on verse le sulfoné dans 500cc d'eau.

E. — PROCÉDÉ DE BOUMA

L'indoxyle et l'isatine peuvent se combiner en donnant des chromogènes générateurs d'indigotine et d'indirubine, c'est sur cette propriété qu'est fondé le procédé de BOUMA.

L'urine, déféquée au sous-acétate, est additionnée de son volume d'acide chlorhydrique tenant en dissolution 20 milligrammes d'ISATINE par litre, puis chauffée à l'ébullition pendant une heure. Après refroidissement, on épuise au chloroforme, et on obtient en très grande partie de l'indirubine avec très peu d'indigotine. On continue le dosage comme dans le procédé WANG-BOUMA, et on divise par 2 le résultat.

MAILLARD craint quelques erreurs résultant de l'introduction dans l'urine du noyau même de la substance à doser.

Nous retiendrons dans le procédé de MAILLARD comme étant à l'heure actuelle le plus scientifiquement précis. La solution de permanganate devra être à 3 grammes par litre environ, et son titre exactement pris au moyen de l'acide oxalique. Les résultats seront en indoxyle, et, pour cela, l'on devra multiplier par 1, 0556 le poids d'acide oxalique cristallisé qu'oxyderait le permanganate de potassium versé.

5. — Dosage de l'Hématoporphyrine

Nous avons cherché un procédé de dosage spectral de l'hématoporphyrine ; malheureusement les caractères spectraux de cette substance colorante

ne nous ont pas permis d'aboutir à un résultat satisfaisant. Il aurait en effet fallu prendre comme point de repère *l'apparition* d'une des bandes ; or, nous avons dit plus haut les raisons qui nous faisaient rejeter cette manière d'opérer.

Par contre, ce dosage peut se faire aisément au moyen de notre appareil spécial que nous décrirons dans la suite.

L'hématoporphyrine est extraite de l'urine par les procédés indiqués plus haut, mise en dissolution. Bien entendu, la solution à titrer et la solution étalon doivent avoir la *même réaction*.

Nous en dirons de même en ce qui concerne le dosage de la méthémoglobine.

CHAPITRE VII.

Examen critique des résultats obtenus sur les matières colorantes de l'urine.

De cette longue énumération de MATIÈRES PIGMENTAIRES, il faut beaucoup retrancher pour se faire une idée de la pigmentation urinaire. L'urine est un milieu où se passent nombre de réactions : la matière colorante fondamentale est évidemment accompagnée de faibles quantités de produits marquant les stades successifs de transformation ; mais, lorsqu'on opère de façon à éviter autant que possible les altérations étrangères, l'on trouve constamment, soit à l'état normal, soit à l'état pathologique, un pigment, qui a une individualité propre, et que nous considérons comme fondamental : l'UROBILINE.

L'on veut souvent différencier l'urobiline normale de ce qui a été appelé « UROBILINE FÉBRILE ». En extrayant la matière colorante d'urines pathologiques provenant de cas très différents, nous avons toujours trouvé un pigment présentant constamment les mêmes propriétés physiques, chimiques et spectrales : la quantité seule diffère. En faisant des expériences sur des solutions qui n'avaient pas la même concentration, beaucoup d'auteurs ont obtenu

des résultats différents et ont ainsi créé des « *individualités pigmentaires* » différentes, alors que, seules variaient les conditions d'observation dans lesquelles ils se trouvaient : beaucoup ont obtenu le même pigment, mais l'ont examiné *différemment*. Nous croyons qu'il est utile d'insister sur ce dernier point, surtout lorsqu'il s'agit de recherches spectrales.

Nous repoussons tout à fait tout procédé d'extraction qui met en œuvre un acide énergique en présence de chloroforme : ce procédé, excellent pour l'extraction de l'indigo-urinaire, ne peut donner dans les autres cas que des produits souillés d'indigotine et d'indirubine, quand ce n'est pas d'isatine.

La recherche de l'uroérythrine ne nous ayant rien donné dans les urines normales, nous éliminons cette matière de la pigmentation physiologique. Ce produit, trouvé dans des états pathologiques correspond à un stade d'oxydation de l'urobiline.

L'uromélanine est, de toute évidence, un produit fabriqué de toutes pièces aux dépens du pigment fondamental par l'énergie des réactions mises en œuvre. Il en est de même de la parauromélanine.

L'urospectrine de SAILLET peut être considérée comme normale, si l'on voit en elle un mélange d'urohématoporphyrine et d'indigotine.

L'urochrome ne nous semble devoir être regardé que comme pigment de transition entre l'urobilinogène et l'urobiline.

Le mode de préparation de l'uriane, du pigment de GIACOSA, de la *purpurine* de GOLDING-BIRD, de l'*urrrhodine*, de l'*uroroséine*, de l'*urocyanine*, implique la production d'une certaine quantité d'in-

digotine, d'indirubine ou d'isatine. Ce ne sont donc pas des matières isolées.

Enfin, de toutes les urines normales, en opérant sur un volume suffisant, l'on peut extraire de faibles quantités d'HÉMATOPORPHYRINE.

En ce qui concerne les chromogènes, la réalité de *l'urobilinogène* est évidente, de même que celle du pigment indigogène et indirubinogène : *l'indoxyle*.

Pour résumer, nous admettons la présence dans toute urine normale deux pigments bien définis :

UROBILINE

UROHÉMATOPORPHYRINE

et de deux chromogènes distincts :

UROBILINOGENE

INDOXYLE

Quant à l'urochrome et l'uroérythrine, nous ne pouvons les considérer comme pigments définitifs, mais comme étapes d'une réaction qui aboutit à la formation d'urobiline.

Dans les cas pathologiques, le nombre des pigments peut varier beaucoup, ce que nous venons de dire ne s'appliquant qu'à l'urine considérée comme normale, émise par des individus en état de santé, et dans des conditions normales de nutrition générale.

CHAPITRE VIII

Origine et séméiologie des pigments urinaires.

Après avoir décrit les différentes matières colorantes des urines physiologiques ou pathologiques, il est utile d'en chercher l'origine et d'examiner brièvement leurs variations. Nous commencerons par la plus importante de toutes : l'UROBILINE.

1. — Origine et séméiologie de l'urobiline.

Nous savons que l'oxyhémoglobine, matière colorante du sang, est décomposée par les acides en albumine hématine, acides gras, urée et sarcine.

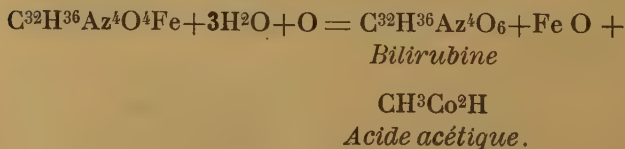
L'hématine dérive donc directement de l'oxyhémoglobine : comparons maintenant les formules indiquant la composition de l'hématine, de la bilirubine et de l'urobiline. Nous voyons que les deux derniers pigments se distinguent du premier par l'absence du fer ce qui les rapproche de l'hématoporphyrine.

HÉMATINE	$C^{32}H^{32}Az^4O^4Fe$
HÉMATOPORPHYRINE	$C^{32}H^{36}Az^4O^6$
BILIRUBINE	$C^{32}H^{36}Az^4O^6$
UROBILINE	$C^{32}H^{40}Az^4O^7$

En examinant ces formules, nous constatons d'abord l'*isomérisie* de l'hématoporphyrine et de la bilirubine : *isomérisie* et non *identité*, car les deux pigments diffèrent notamment par leurs caractères physiques, chimiques et spectraux.

D'autre part, nous voyons que l'édifice moléculaire n'est pas entamé dans son noyau carboné : toutes ces formules sont en C^{32} . Le nombre d'atomes d'azote reste également fixe : ces différentes transformations sont donc évidemment dues à des réactions d'oxydation ou d'hydratation. Enfin la présence de l'urobiline dans la bile, constaté par HOPPE-SEYLER et WINTER, nous montre, réunis dans un même organe et probablement au lieu de leur formation, deux principes colorants dont les analogies chimiques sont si frappantes. Il est établi, d'autre part, que la bilirubine existe seulement dans la bile des animaux à *sang rouge*, et qu'elle fait complètement défaut lorsqu'il n'existe pas d'hémoglobine ; les invertébrés et l'*amphioxus* ne fabriquent pas de bilirubine.

L'hématine et l'hématoporphyrine sont-elles les seules sources directes de la bilirubine, nous ne le pensons pas. Prenons la formule qui exprime la transformation de l'hématine en bilirubine.



Cette formule nous convient mieux que celle de NENCKI et SIEBER ; nous allons expliquer pourquoi.

En traitant l'acide glycocholique par un acide minéral en présence d'acide acétique, MICHAILOFF a obtenu un liquide orangé qui, précipité par le sulfate d'ammoniaque, donne une matière colorante semblable à la BILIRUBINE et, en plus, l'on obtient de l'UROBILINE. Ce point nous semble tout à fait important, non pas pour détruire la filiation de l'hématine et de la bilirubine, mais pour montrer que le pigment biliaire et le pigment urinaire peuvent dériver de l'oxyhémoglobine par deux procédés différents.

Quels sont en effet les constituants caractéristiques de la bile ? Des matières colorantes, bilirubine et pigments dérivés, et des sels alcalins des acides glycocholique et taurocholique. Nous nous sommes expliqué sur l'une des origines de la bilirubine ; quelle est donc la source des acides biliaires ? et, d'abord, quel est leur lieu de formation ? SCHMULEWITSCH (1) puis MINKOWSKI et NAUNYN, opérant sur des oiseaux, ont trouvé des acides biliaires dans le sang et les tissus après extirpation *partielle* du foie, mais *jamais* après ablation *totale*. D'autres, KALLMEYER et HOFFMANN ont démontré, qu'au contact des cellules hépatiques ou de leur protoplasme, il se produit aux dépens de l'hémoglobine et des albumines du sérum non seulement des pigments mais aussi des sels biliaires. Tous ces phénomènes n'ont lieu qu'en présence d'hydrates de carbone, glycogène et surtout glycose.

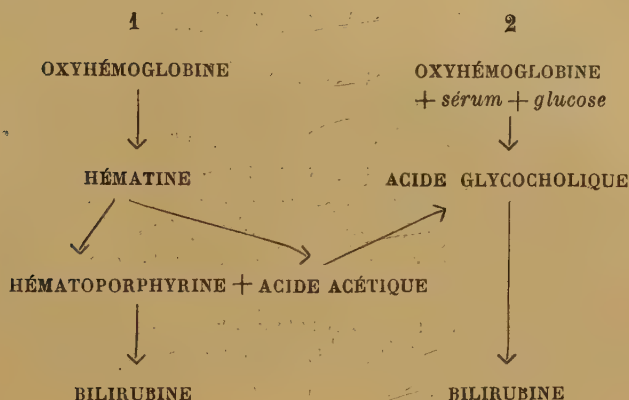
C'est donc bien le foie qui est le lieu de formation des acides et sels biliaires, comme il est le lieu de

(1) Roger. Physiologie du foie. Paris. Collection *Léauté*.

production des matières pigmentaires : Nous disons dans les conditions normales, car l'on sait que la bilirubine peut avoir une origine extra-hépatique ; en injectant du sang de cheval dans le tissu cellulaire du même animal, LATSCHENBERGER a pu provoquer la formation de foyers de bilirubine. L'on sait aussi que les vieux foyers hémorrhagiques contiennent un pigment, « l'hématoïdine », qui est bien voisin de la bilirubine ; enfin, le placenta des chiennes renferme une notable quantité de biliverdine, produit d'oxydation du pigment fondamental hépatique.

En possession de ces faits, revenons à notre formule de transformation de l'hématine : une certaine quantité d'acide acétique est mise en liberté ; or nous avons vu que la présence de cet acide est indispensable pour la transformation de l'acide glycocholique en pigment rouge et urobiline : il nous semble donc que la transformation l'hématine en bilirubine met les acides biliaires dans les conditions et le milieu voulus pour leur transformation en pigment.

Il nous paraît donc logique d'établir ainsi qu'il suit l'arbre généalogique de la bilirubine, premier stade important de notre pigmentation.



N'oublions pas, d'autre part, qu'à ce moment existe déjà une certaine quantité d'urobiline produite par les transformations 2.

Somme toute, nous résumons ainsi qu'il suit notre hypothèse de la formation de la bilirubine par le moyen de deux processus simultanés et liés entre eux ;

A. — 1° Transformation de l'hémoglobine en hématine.

2° Hydratation de l'hématine, produisant de l'hématoporphyrine et de l'acide acétique.

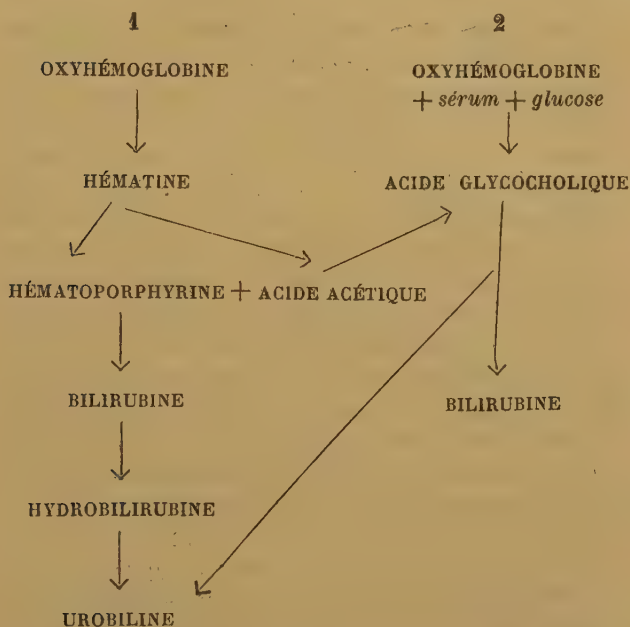
3° Transpositions moléculaires détruisant l'isomérisie et amenant à identité l'hématoporphyrine et la bilirubine.

B. — 1° Formation des acides biliaires aux dépens de l'oxyhémoglobine, du sérum et du glucose.

2° Production de la bilirubine par la réaction

1° Réduction de la bilirubine dans le foie et l'intestin.

2° Action de l'acide acétique sur les sels biliaires, déterminant la production simultanée de bilirubine et d'urobiline. Selon cette hypothèse, le processus serait ainsi représenté :



L'urobiline et son chromogène doivent donc être considérés comme le terme ultime de la transformation des pigments biliaires.

Passons à l'étude la séméiologie de l'urobiline, Plusieurs auteurs ont considéré l'urobiline comme

pouvant se présenter de façon différente à l'état normal et à l'état pathologique. JAFFÉ et MAC MUNN, notamment décrivirent les caractères spectraux de l'*urobiline fébrile* comme différents de ceux des faibles quantités de pigment qu'ils trouvaient parfois dans des urines normales. Ce fait est facile à expliquer : allant chercher, par des procédés peu exacts, l'urobiline dans les urines pathologiques très colorées, ils extrayaient en même temps une certaine proportion de pigments étrangers. Nous nous sommes déjà expliqué à ce sujet : nous considérons le pigment urobiline comme étant toujours semblable à lui-même, soit à l'état normal, soit à l'état pathologique. L'ayant extrait, par notre procédé de préparation, d'urines de typhiques, fiévreux, rhumatisants, etc., il nous a toujours donné les mêmes réactions spectrales. Sa présence dans les urines ne signifie donc rien au point de vue clinique, puisqu'il est constant : ce qui importe, c'est sa quantité. Le mot *urobilinurie* doit être compris dans le même sens que *azoturie* ou *phosphaturie*, c'est-à-dire exagération, et non pas dans le sens de *hématurie*, présence d'un produit anormal.

« *L'urobiline est le pigment du foie malade* ». Les troubles hépatiques de toute nature augmentent considérablement la proportion d'urobiline dans l'urine, et cela se produit, soit dans les affections primitives, soit dans les affections secondaires. Qu'il s'agisse de cirrhose atrophique ou hypertrophique, de tumeur maligne, d'ictère bénin ou grave nous trouvons des doses d'urobiline doubles, triples ou quadruples de la normale, et nous avons plu-

sieurs fois observé des chiffres de 0^{er}, 70 par 24 heures.

Dans un cas de cancer hépatique, nous avons constaté un phénomène intéressant quelques jours avant l'issue fatale : l'urobiline, qui avait atteint la dose énorme de 0^{er}, 75, diminua subitement jusqu'au chiffre de 0^{er}, 20. Il nous semble que ce fait est analogue à la disparition de glucose chez certains diabétiques, dans la période qui précède la mort.

Dans la cirrhose hypertrophique avec ictère vrai, l'urobiline est encore augmentée, mais beaucoup moins que dans la cirrhose atrophique de Laennec. Parmi les maladies augmentant le pigment urinaire, il faut encore citer les infections et les fièvres : la tuberculose pulmonaire, le rhumatisme articulaire aigu, le paludisme, la pneumonie, la rougeole, et surtout la fièvre typhoïde.

Dans ces infections, le sang est profondément altéré, l'hémolyse se produit, la transformation de l'hématine en hématoporphyrine et bilirubine est accélérée ; le foie, en état de suractivité fonctionnelle, lutte contre l'intoxication et élabore de plus en plus d'urobiline. Nous constatons, au contraire, une diminution considérable dans la quantité d'urobiline excrétée chez les individus dont la nutrition générale est ralentie : les chlorotiques, hystériques, neurasthéniques et, en général, lorsque l'activité fonctionnelle du foie est ralentie.

2. — Bilirubinurie

La présence de la bilirubine dans l'urine est un des symptômes les plus constants de l'ictère vrai

et, en général, des affections qui produisent une obstruction des voies biliaires, ou une destruction trop rapide du globule sanguin; la cellule hépatique s'évertue à réagir, mais elle ne peut arriver au stade terminal; la production de l'*urobiline*. Dans ces cas l'on constate toujours également de l'*hématoporphyrinurie*.

3.—*Hématurie*.—*Hémoglobinurie*.

La matière colorante du sang peut faire son apparition dans l'urine, soit accompagnée du globule, *hématurie*, soit à l'état libre, *hémoglobinurie*. Le diagnostic est tranché par le microscope.

A. — **HÉMATURIE.** — L'urine a une couleur variant du rose au rouge sombre, parfois même elle est brune, et contient un dépôt analogue au marc de café. Ce symptôme est fréquent dans les maladies des voies urinaires, et son étude attentive permet souvent de diagnostiquer le siège de la lésion. On l'observe dans les contusions rénales et dans la lithiase, les néphrites aiguës ou chroniques. Les crises hématuriques sont également très fréquentes dans les tumeurs et la tuberculose du rein : dans ce derniers cas, elles correspondent aux hémoptysies des tuberculeux pulmonaires. Enfin les maladies de la vessie, tumeurs, tuberculose, calculs et de la prostate, s'accompagnent d'émissions sanguines.

Il convient de signaler également les hématuries de cause infectieuse : les plus connues sont celles de la fièvre typhoïde, de la variole, de la scarlatine. Elles comportent généralement un pronostic plutôt

fâcheux mais cette règle n'est pas absolue : nous avons vu dans le service du professeur DIEULAFOY un jeune enfant qui avait eu d'abondantes hématuries après une scarlatine à allures tout à fait bénignes. Enfin il convient de noter les hématuries essentielles des pays chauds : hématurie d'ÉGYPTE, du BRÉSIL, filarienne.

B. — HÉMOGLOBINURIE. — La teinte de l'urine est la même que dans l'hématurie. L'oxyhémoglobine s'y trouve rarement seule : elle y est généralement accompagnée d'hémoglobine réduite et de méthémoglobine. L'hémoglobinurie peut être produite artificiellement par les injections intra-veineuses d'eau, de sels biliaires, d'azotite de sodium ou par transfusion du sang à un animal d'espèce différente. La cause de l'hémoglobinurie a donné lieu à bien des discussions ;

A. ROBIN admet l'existence de deux facteurs : altération de la nutrition diminuant la résistance des globules, et poussée congestive rénale.

Selon PONFICK, l'hémoglobinhémie précède l'hémoglobinurie.

Pour EHRLICH, il faut incriminer la paroi des capillaires qui, sous l'influence du froid, secrète une substance hémolysante.

En tous cas, il faut admettre qu'il s'agit toujours d'une dégénérescence profonde de l'élément sanguin.

L'on constate l'hémoglobinurie au cours de certaines intoxications produites par : *acides minéraux*, *pyrogallol*, *chlorate de potasse*, *naphtol*, *phosphore*. Le symptôme est encore observé dans les infections : variole hémorrhagique, ictère grave

(MURRI), rhumatisme articulaire aigu (HAYEM) et dans la fièvre bilieuse du SÉNÉGAL et du GABON.

4. — Méthémoglobinurie

Les causes de ce symptôme sont en général celles de l'hémoglobinurie. L'on peut incriminer les intoxications les plus variées, et le nombre des corps qui transforment l'hémoglobine en méthémoglobine est considérable. HAYEM (1) les divise en deux catégories. La kaïrine, la thalline et le nitrite d'amyle produisent la transformation dans l'intérieur même du globule, sans détruire ce dernier.

Le nitrite de sodium, le pyrogallol, le permanganate de potassium détruisent partiellement les hématies.

Enfin le ferricyanure de potassium ne peut que modifier l'oxyhémoglobine dissoute.

Nous placerons ici une expérience personnelle. Après ingestion de un gramme d'*antipyrine* nous pûmes constater dans nos urines la présence d'une quantité notable de méthémoglobine. Nous n'érigions pas ce fait en règle générale car nous présentons une « *idiosyncrasie* » particulière pour ce médicament, qui provoque chez nous des troubles graves.

5. — Hématoporphyrinurie.

Nous prenons le mot « *hématoporphyrinurie* » dans le sens d'exagération du pigment, puisque nous

(1) HAYEM: C. R., 102, 698.

avons fait de ce dernier un principe constituant des urines normales.

D'après STOKWIS et HAMMARSTEN, on en trouve une augmentation notable chez les individus faisant un usage prolongé ou abusif du sulfonal et du trional. Selon MAC MUNN, ce pigment est particulièrement abondant dans les maladies d'ADDISON et de BASEDOW, et dans la phthisie.

Nos analyses personnelles nous ont permis de trouver des quantités notables d'hématoporphyrine chez un saturnin hospitalisé à Beaujon, chez un typhique, et chez un jeune homme atteint de tuberculose osseuse, traité dans le service de M. LUCAS-CHAMPIONNIÈRE.

Sauf quelques exceptions, l'augmentation de l'hématoporphyrine a été accompagnée d'une excrétion plus grande d'urobiline.

Enfin l'hématoporphyrinurie la plus intense que nous ayons observée est celle d'un tabétique, atteint de syphilis hépatique.

6. — *Indoxylurie.*

Nous avons dit que l'indigotine dérivée des indoxylsulfates peut être décelée dans les urines normales ; mais ce n'est que dans les cas pathologiques qu'apparaît l'indicanurie, nous dirons l'*indoxylurie*, cette dernière appellation étant beaucoup plus logique.

SCHUNK, de Manchester, puis RABUTEAU font dériver l'indican de l'hémoglobine du sang.

Il faut arriver à JAFFÉ pour voir mettre en évidence la parenté de l'indol et du pigment bleu. En

injectant de l'indol dans le tissu cellulaire sous-cutané, cet auteur a pu constater l'augmentation de l'*indican* dans les urines des animaux soumis à l'expérience.

VIRCHOW professe que l'indol est dû à la décomposition des matières albuminoïdes. Cet indol passe dans le sang pour s'y transformer en indoxylsulfate de potassium, lequel est éliminé par le rein.

SCHMIEDEBERG a constaté que les urines contiennent un autre dérivé de l'indoxyle, l'acide *indoxylglycuronique*.

Ce corps, très peu stable, n'a pas été préparé à l'état de pureté. Il se transformerait très facilement en pigment bleu, et c'est à son abondance que serait due la coloration bleue que certaines urines présentent spontanément, sans addition d'acide et sans oxydation à l'air.

Les indoxylsulfates dérivent chimiquement de l'indol. Or, sous l'action des fermentations produites par certaines bactéries en présence des matières albuminoïdes, il se produit de faibles doses d'indol. D'autre part, la quantité d'indigo que l'on peut déceler dans les urines augmente singulièrement dans les affections où les fermentations intestinales sont exagérées, et diminue, presque jusqu'à zéro, lorsque le tube digestif est maintenu dans l'état d'asepsie relative que l'on obtient par les lavages, purgatifs, antiseptiques intestinaux. Il est donc permis de supposer que l'indoxylurie est en rapport plus ou moins direct avec l'état des voies digestives et surtout avec l'état du foie.

En effet d'après KAHANE (1) le foie emmagasinerait

(1) Cité par PETITPAS.

l'indol puis le transformerait : l'apparition dans les urines d'une trop forte proportion d'indoxyle indiquerait donc la déchéance de la cellule hépatique, devenue impropre à remplir son rôle de « DESTRUCTRICE D'INDOL ».

Il est en effet prouvé que l'hyperindoxylurie se montre surtout lorsque les fermentations intestinales sont exagérées, et lorsque le foie, adultéré par les produits microbiens ne peut remplir qu'incomplètement son rôle antiseptique.

Dans les conditions expérimentales, l'on peut produire l'indoxylurie par le régime carné exclusif, et surtout par l'ingestion d'une grande quantité d'œufs. PETITPAS nous a donné à ce sujet une série d'expériences tout à fait concluantes.

Enfin, si l'on injecte sous la peau une certaine quantité d'acide orthonitrophénylpropionique, l'on peut retrouver dans les urines une plus grande quantité d'indigotine : c'est une synthèse produite par l'organisme.

Les affections dans lesquelles on a constaté la plus forte proportion d'indoxyle éliminé sont les suivantes. En 1875, SCHIFF signale la présence de l'indican chez les sujets atteints de grippe infectieuse surtout lorsque l'appareil digestif est particulièrement affecté. Peu après, KAHANE signale la présence de ce pigment dans les urines d'enfants tuberculeux. Il considère sa recherche comme tout à fait importante, et comme pouvant mettre dans la voie du diagnostic, lorsque les lésions sont encore peu accentuées.

PETITPAS, après de nombreux examens, retrouve de l'indicanurie dans les cas les plus variés : nephri-

tes, ictère grave, asystolie, cirrhoses, fièvre typhoïde, variole, mais surtout lorsque le tube digestif est atteint et *que la cellule hépatique a commencé à dégénérer.*

Selon MAILLARD, l'hyperindoxylurie pourrait être engendrée par l'excès de travail intellectuel. Les recherches de cet auteur sur les urines d'un grand nombre d'étudiants en médecine confirment cette opinion.

Donc, en résumé, alimentation trop azotée, travail intellectuel exagéré, mauvais état du tube digestif, infections, et, en somme, toutes causes surmenant la cellule hépatique et amenant la déchéance de l'organisme nous semblent être la source d'une élimination anormale d'indoxylsulfates par le rein.

CHAPITRE IX

Caractères spectraux des réactions colorées des composés incolores de l'urine.

Les composés non colorés de l'urine ne donnant pas de bandes d'absorption dans la région visible du spectre, nous avons cherché à les caractériser par l'examen de leurs réactions de coloration. Les réactions de coloration sont, en effet, entachées d'un grand caractère d'incertitude : de faibles changements dans les conditions expérimentales, concentration des réactifs, volume de la solution, température, action des corps étrangers, produisent de grandes différences dans les résultats obtenus. Si nous prenons comme exemple la réaction de PERTENKOFFER sur les acides biliaires, nous constatons que l'élévation exagérée de la température ne donne qu'une coloration brunâtre, au lieu de la belle nuance pourpre considérée comme caractéristique.

Nous dirons de suite que cette étude a été peu fructueuse, un grand nombre de réactions colorées éteignant simplement les deux extrémités du spectre, sans produire de bandes caractéristiques.

1. -- *Urée*

La réaction colorée la plus nette est celle dite du « *Biuret* ». Pour bien réussir il faut ajouter une forte quantité de dissolution de soude, puis, goutte à goutte une solution de sulfate de cuivre très étendue : cette dernière doit être presque incolore. L'on obtient alors une coloration violette qui présente les caractères spectraux suivants :

Pour de faibles épaisseurs, aucun phénomène. En augmentant la couche du liquide, les deux extrémités du spectre sont absorbées faiblement, et, pour de grandes épaisseurs, l'on aperçoit une très faible bande, dont les limites peu nettes sont $L=550$ et $L=540$ (1).

Il est utile d'isoler l'urée, car les résultats sont nuls lorsqu'on opère sur l'urine totale.

2. — *Acide urique.*

Nous avons examiné la réaction de la *murexide*.

L'acide urique est traité à sec par de l'acide azotique concentré ; on évapore, puis ajoute quelques gouttes d'ammoniaque. Il se développe une belle coloration rouge. En opérant ainsi sur des quantités notables d'acide urique, l'on peut préparer une certaine quantité de matière colorante. Cette dernière se dissout bien dans l'eau.

Examinée au spectroscopé à des épaisseurs croissantes, la solution de *murexide* ne présente pas de

(1) Voir PLANCHE III. N° 23.

bandes d'absorption caractéristiques ; l'on constate seulement une extinction graduelle des deux extrémités et, lorsqu'on arrive à l'effet spectral maximum, une faible bande du rouge est seule visible.

L'effet spectral, comme il fallait s'y attendre, est le même lorsqu'on opère avec l'acide urique, la caféine, la théobromine, composés xanthiques.

Nous ne connaissons pas de réactions colorées de l'acide hippurique.

3. — *Créatinine.*

Il est de toute nécessité d'*isoler* la créatinine. Plusieurs litres d'urine sont traités par l'eau de chaux et le chlorure de calcium pour séparer les phosphates. On concentre presque à siccité ; le résidu est repris à chaud par de l'alcool fort ; on évapore l'alcool et l'on ajoute une solution alcoolique de chlorure de zinc. En abandonnant dans un endroit frais, le chlorure double de zinc et de créatinine cristallise. On le dissout dans l'eau bouillante et on le décompose par l'hydrate de plomb ; la créatinine cristallise.

Ce composé prend une coloration *rouge-rubis* au contact d'une solution très étendue de nitroprusiate de soude alcalin. Il faut opérer à froid. Les deux extrémités du spectre sont absorbées pour de faibles épaisseurs.

Si l'on ajoute de l'acide acétique, la teinte passe au vert, puis au bleu. Cette dernière coloration laisse apparaître dans le vert une bande obscure très peu nette et à limites difficilement déterminables.

4. — *Albumine.*

Nous avons expérimenté la réaction de PETTENKOFFER et celle du *Biuret*.

1° RÉACTION DE PETTENKOFFER. — Nous considérons comme peu commode le procédé au sucre de canne et acide sulfurique : l'élévation de température est souvent trop considérable, et la couleur passe parfois au rouge-brunâtre. Nous additionnons la solution de très peu d'acide sulfurique concentré, puis nous ajoutons quelques gouttes d'une solution alcoolique de furfurol à 5 pour 30. Cette dernière solution est très altérable.

Cette réaction sur l'albumine nous a fait voir une bande d'absorption, ayant pour limites $L=520$ et $L=490$. Cette bande est très faible (1).

2° RÉACTION DU BIURET. — Pour de grandes épaisseurs, le liquide filtré montre une bande dont les bords sont à $L=570$ et $L=520$ (2).

5. — *Peptones.*

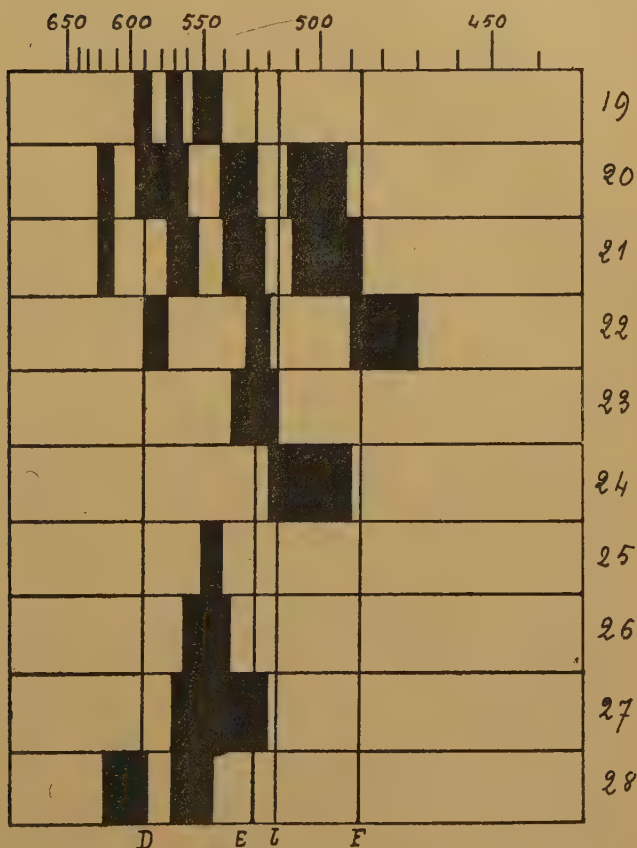
RÉACTION DU BIURET. — Les peptones se colorent en rose. L'aspect spectral est constitué par une bande nébuleuse, ayant pour limites $L=560$ et $L=535$ (3).

(1) Voir PLANCHE III. N° 24.

(2) Voir PLANCHE III. N° 27.

(3) Voir PLANCHE III. N° 26.

PLANCHE III. — 10 SPECTRES



- Légende : 19. — Hématoporphyrine acide.
 20. — — — alcaline (Parmentier).
 21. — — — neutre.
 22. — Réaction de Pettenkoffer. — Acide Taurocholique.
 23. — — — — Glycocholique (Parmentier).
 24. — Réaction de Pettenkoffer. — Albumine.
 25. — — — Biuret. — Urée.
 26. — — — — Peptones.
 27. — — — — Albumine. (Parmentier).
 28. — Urine copahuviqne chlorhydrique.

En résumé la réaction du *Biuret* donne les résultats suivants :

URÉE :	bande entre	550 et 540
ALBUMINE :	» »	520 et 490
PEPTONES :	» »	570 et 520

6. — *Acides biliaires.*

La réaction de PETTENKOFFER sur les acides biliaires présente un spectre caractéristique.

Nous devons étudier séparément l'effet de la réaction sur l'acide glycocholique et sur l'acide taurocholique.

A. — RECHERCHES DE MAC-MUNN.

MAC-MUNN, en 1867, fit les premières recherches spectrales sur la réaction de PETTENKOFFER appliquée aux sels biliaires. Il constata la présence de deux bandes d'absorption, l'une au niveau de F, l'autre entre D et E près de E. En augmentant la concentration de la solution, il vit apparaître 4 bandes, ayant pour limites respectives : la première, $L = 595$ et $L = 565$; la deuxième, $L = 518$ et $L = 540$; la troisième, $L = 490$ et $L = 470$ et la quatrième, $L = 440$ et $L = 425$. En même temps, étaient absorbées les deux extrémités du spectre.

B. — RECHERCHES DE FUMOZE.

FUMOZE, en 1871, décrit ainsi ses résultats : la solution violet-pourpre obtenue par la réaction de PETTENKOFFER sur la bile est diluée, et rendue transparente par l'acide acétique. Elle est dichroïque :

verte à la lumière réfléchie, rouge-violet à la lumière transmise. Placée devant la fente du spectroscopie elle donne un spectre interrompu par quatre bandes d'absorption.

Première bande, à gauche de D °

Deuxième bande, à droite de D.

Troisième bande en E, recouvrant la moitié de l'espace DE, et tout l'espace E b.

Quatrième bande en F.

Ces quatre bandes ne sont pas très nettes, leurs bords se confondent avec les régions voisines du spectre.

Si l'on examine des solutions concentrées, on voit la deuxième et la troisième bande du spectre se confondre en une seule bande très foncée, occupant la plus grande partie de l'espace DE, et tout l'espace Eb ; les deux autres bandes sont aussi plus vigoureusement dessinées.

C. — RECHERCHES DE BOGOMOLOFF.

BOGOMOLOFF, en 1869, reconnaît que la réaction de PETTENKOFFER donne des spectres différents avec chacun des acides biliaires.

Avec l'acide cholalique, le spectre présente deux bandes d'absorption, l'une à gauche de D, l'autre en E, occupant la position de la première et de la troisième bande du spectre de réaction de PETTENKOFFER sur la bile.

Avec l'acide glycocholique, le spectre ne présente plus qu'une seule bande d'absorption en E.

Avec l'acide taurocholique, le spectre est interrompu par trois bandes, l'une à droite de D, la deu-

xième en E, et la troisième en F, semblables aux trois bandes correspondantes de la réaction de PETTENKOFFER sur la bile.

On peut ainsi résumer ces réactions :

Acide glycocholique, une bande en E.

Acide cholalique, deux bandes, l'une à gauche de D, l'autre en E.

Acide taurocholique, 3 bandes, à droite de D, en E, en F. Sur la bile totale, 4 bandes, à gauche de D, à droite de D, en E, en F.

D. — RECHERCHES PERSONNELLES

Nous avons examiné l'action du furfurol sulfurique sur la bile totale, l'acide glycocholique, l'acide taurocholique et enfin les sels biliaires, tels qu'ils se trouvent dans les urines pathologiques.

1° ACIDE GLYCOCHOLIQUE. La réaction de PETTENKOFFER sur cet acide nous a donné une solution, qui présente un spectre composé d'une bande unique, ayant pour limites $L = 535$ et $L = 518$. Cette bande est bien nette (1).

2° ACIDE TAUROCHOLIQUE. Spectre composé de trois bandes obscures : l'une à droite de D, ayant ses bords à $L = 589$ et $L = 575$; la deuxième, ayant pour limites $L = 530$ et $L = 520,5$; la troisième, limitée par $L = 491$ et $L = 470$ (2).

Le spectre de la bile totale traitée par la réaction de PETTENKOFFER est la superposition exacte des deux spectres précédents. L'on remarquera que l'une

(1) Voir PLANCHE III. N° 23.

(2) » » » » N° 22.

des bandes de l'acide taurocholique est masquée par la bande correspondante, plus étendue, de l'acide glycocholique. On n'observe donc que trois bandes repérées comme il suit :

$$L = 589 \text{ à } L = 575$$

$$L = 535 \text{ à } L = 518$$

$$L = 491 \text{ à } L = 470$$

C'est ce spectre que l'on observe avec les urines contenant des acides biliaires. C'est la deuxième bande qui est de beaucoup la mieux marquée.

Nous avons cherché à fonder sur la réaction de PETTENKOFFER un procédé de dosage spectral des acides biliaires. La chose est impossible : la réaction de PETTENKOFFER n'implique pas une transformation totale des acides ; la quantité d'acide transformée varie essentiellement, et, par suite, l'épaisseur à laquelle se produisent les phénomènes spectraux.

Résumé de la spectroscopie de la réaction de Pettenkoffer :

1° ALBUMINE. — 1 bande, $L = 570 \text{ à } L = 520$

2° ACIDES BILIAIRES. — 3 bandes, $L = 589 \text{ à } L = 575$
 $L = 535 \text{ à } L = 518$
 $L = 491 \text{ à } L = 470$

3° PHÉNOL. — 1 bande, $L = 520 \text{ à } L = 490$

L'on voit par ces exemples que la réaction de PETTENKOFFER, qui n'est pas caractéristique en tant que réaction colorée, le devient en tant que réaction spectrale.

CHAPITRE X.

Recherches spectrales sur les colorations accidentelles de l'urine.

Certains composés introduits dans l'organisme s'éliminent par les urines en leur donnant une coloration particulière. Nous avons étudié ces colorations au point de vue de leurs caractères spectraux nous donnerons ici les résultats que nous avons obtenu avec des urines colorées par l'*acide picrique*, le *phénol*, le *naphtol*, le *pyramidon*, le *chrysophanique*, le *copahu*.

1. — *Trinitrophénol*.

Nous avons ingéré des doses d'acide picrique variant entre 5 et 10 centigrammes : l'urine du matin est particulièrement foncée, elle a une teinte rouge brun. L'acide picrique en solution ne donne pas de spectre de bandes : les deux extrémités sont plus ou moins éteintes selon la concentration. Nous avons alors examiné deux réactions colorées de l'acide picrique : celle de l'*isopurpurate* et celle de l'*acide picramique*. Ces réactions réussissent bien avec l'urine, mais il est préférable d'isoler au préa-

lable le trinitrophénol par le procédé suivant : un litre d'urine est évaporé au bain-marie jusqu'à siccité. Le résidu est repris par l'alcool, et l'alcool évaporé. Le nouveau résidu est acidulé par l'acide sulfurique et épuisé par l'éther qui dissout l'acide picrique.

1° RÉACTION DE L'ISOPURPURATE. — La solution picrique est traitée par l'ammoniaque, puis par une solution de cyanure de potassium. L'on obtient une coloration rouge foncé. Examinée au spectroscope, cette solution éteint successivement les deux extrémités du spectre lumineux. A l'effet spectral maximum, il ne passe plus qu'une bande dans le *rouge-moyen*.

2° FORMATION D'ACIDE PICRAMIQUE. — L'acide picrique est traité par un réducteur, de préférence le sulfhydrate d'ammoniaque. La solution jaune-rouge éteint progressivement le *violet*, l'*indigo*, le *bleu*, le *jaune* et le *rouge-extrême*. A l'effet spectral maximum, il passe seulement un peu de *rouge* et d'*orangé*.

Nous avons vu que l'urine concentrée du matin était colorée en rouge-brun après ingestion de trinitrophénol. Nous avons cherché à reconnaître si cette coloration était due à la *superposition* de l'acide picrique en nature et du pigment urinaire normal. En extrayant l'urine comme précédemment nous avons alors obtenu un résidu qui n'était pas jaune comme le trinitrophénol, mais qui présentait tous les caractères de l'ACIDE PICRAMIQUE. Quelle est la réaction qui peut donner naissance à cette transformation ? Nous avons fait réagir « *in vitro* »

l'acide picrique sur les différents composants de l'urine et obtenu un résultat positif avec l'acide urique. Notre expérience est la suivante : une solution de trinitrophénol est mise en présence d'acide urique solide et de solution sodique. En chauffant légèrement, on obtient une solution rougeâtre présentant les caractères de l'acide picramique. L'addition d'acide azotique fait virer au jaune, en redonnant l'acide picrique.

L'action de l'acide urique sur le trinitrophénol est donc une action réductrice qui a pour résultat la production d'acide picramique ou *dinitroamidophénol*.

Cette réduction se fait-elle dans l'organisme ou dans la vessie : nous pensons que la réaction s'opère dans la vessie, car, seule, l'urine qui y a séjourné longtemps présente les caractères de l'acide picramique ; les urines suivantes ne contiennent que de l'acide picrique.

2. — *Pyramidon*.

Le pyramidon ne donne en général pas naissance à des urines colorées ; mais, accidentellement (1), l'on constate l'apparition d'une couleur rouge, qui a pu prêter à confusion avec l'hématurie. La coloration est due à l'*acide rubazonique* formé dans l'organisme. Nous avons pu nous procurer une urine présentant ce caractère.

L'urine est agitée avec de l'éther acétique, ce dernier est séparé et évaporé. L'on reprend par l'eau

(1) APERT. — Archives génér. de médecine, 1904. N° 27.

ammoniacale, puis par éther acétique : ce dernier, évaporé, abandonne des aiguilles rouges insolubles dans l'eau, peu solubles dans l'alcool, solubles dans l'éther acétique, le chloroforme, les alcalis.

Présentée au spectroscope, la solution montre une bande d'absorption très nette entre $L=550$ et $L=490$ (1).

3. — *Copahu.*

Le copahu peut être facilement décelé dans les urines au moyen de ses caractères spectraux. Nous procédons de la façon suivante : l'urine est fortement agitée avec du chloroforme et ce dernier, décanté, est fortement acidulé par l'acide chlorhydrique fumant. Il se développe une magnifique coloration rouge, qui présente une bande d'absorption très noire, ayant pour limites $L=570$ et $L=541$. En augmentant la concentration ou l'épaisseur, l'on voit apparaître une deuxième bande, dont les bords ont pour longueur d'onde $L=615$ et $L=586$ (2).

Cet aspect spectral est tout à fait caractéristique,

4. — *Acide chrysophanique.*

L'urine colorée en jaune-intense par l'ingestion d'acide chrysophanique ou de rhubarbe est traitée par l'ammoniaque. L'on obtient une coloration rouge qui ne présente pas de spectre particulier : par contre, les radiations lumineuses sont successivement

(1) Voir PLANCHE IV. N° 35.

(2) Voir PLANCHE III. N° 28.

éteintes, en commençant par les plus réfrangibles.

A l'effet spectral maximum, il passe seulement le rouge, l'orangé et le jaune jusqu'à D(1).

5. — *Naphtol.*

Les naphtols, ingérés en quantité un peu considérable, donnent souvent aux urines une coloration noirâtre. Une partie passe inaltérée. La teinte foncée ne présente pas de spectre d'absorption spécial, mais on peut rechercher le naphtol par la réaction suivante qui donne un spectre particulier.

Le naphtol est extrait au moyen du chloroforme, et la solution chloroformique chauffée en présence de potasse caustique solide. Il se développe une coloration verte, sans spectre, mais si l'on ajoute de l'acide chlorhydrique, il se forme un précipité floconneux et la solution est agitée avec de l'alcool amylique. Ce dernier prend une coloration pourpre très intense. L'on peut alors voir une bande spectrale très noire ayant pour limites $L = 660$ et $L = 640$ (2).

La réaction que nous venons de décrire devrait aboutir à la formation d'aurines, mais la bande de l'aurine vraie est située beaucoup plus à droite, dans le vert.

6. — *Phénol.*

Le phénol se trouve rarement à l'état libre dans les urines. Une partie passe en acide *phénolsulfu-*

(1) Voir PLANCHE IV. N° 38.

(2) Voir PLANCHE IV. N° 37.

rique, l'autre partie en *hydroquinone*. Celle-ci s'oxyde en partie et fournit des produits colorés qui teintent l'urine.

La réaction indiquée pour le naphтол ne donne pas de résultats bien nets. « *In vitro* », la coloration rouge obtenue est sans effet spectral.

Nous nous sommes donc adressé à l'action de furofол sulfurique sur le phénol. L'on obtient ainsi une bande d'absorption très faible dont les limites sont $L = 520$ et $L = 490$ (1).

Les expériences faites sur l'urine en nature sont peu satisfaisantes : la bande est alors véritablement indécise. Nous avons essayé au point de vue spectral les réactions suivantes :

Nitrite de soude + acide sulfurique ;

Acide chlorhydrique + acide nitrique (ALLEN) ;

Acide molybdique + acide sulfurique (DAVY) ;

Azotate acide de mercure (MILLON) ;

Chlorure de chaux + ammoniaque (SALKOWSKY).

Nous avons toujours obtenu l'extinction progressive des deux extrémités du spectre, mais pas de bandes caractéristiques.

(1) Voir PLANCHE IV. N° 36.

CHAPITRE XI

Spectroscopie urinaire des substances chimiques colorées employées dans l'étude de la perméabilité rénale.

A. — *Bleu de méthylène*

Depuis les travaux de ACHARD et CASTAIGNE (1) sur l'élimination des produits colorés par le rein, la recherche et le dosage du bleu de méthylène dans l'urine ont pris une grande importance. Le bleu s'élimine en totalité par les urines, soit en nature, soit sous forme de *chromogène* incolore ; l'on a même signalé la présence de 2 *chromogènes* différents : l'un se transformant en bleu sous l'action de la chaleur seule, l'autre nécessitant la présence de l'acide acétique pour la régénération de la matière colorante (F. MULLER). Quoiqu'il en soit, le bleu existant à l'état de *chromogène* est complètement récupéré, lorsqu'on fait bouillir l'urine après l'avoir traitée par l'acide. L'on injecte 1 cent. cube d'une solution aqueuse à 1 pour 20, soit 5 centigrammes de matière colorante. L'on recueille l'urine toutes les heures, et l'on y dose le bleu en nature et le bleu

(1) ACHARD et CASTAIGNE. Examen clinique des fonctions rénales par l'élimination provoquée. Paris, 1900.

total ; la différence donne la quantité de chromogène. Le dosage se fait au moyen des procédés colorimétriques ordinaires, par comparaison de teintes avec une solution titrée. Nous ferons ici une objection à cette méthode : l'urine n'est pas un produit incolore ; aussi son mélange avec le bleu donne-t-il des teintes variant du *jaune-vert* au *vert-bleu*, et cela, suivant que l'urine du moment est plus ou moins chargée de pigment jaune. Un litre d'urine contenant 1 centigr. de bleu n'a pas la même couleur qu'une solution aqueuse à même concentration. Or, *s'il est relativement facile de comparer des solutions de même tonalité, la question se complique singulièrement, lorsque la teinte n'appartient pas au même ordre de radiations.* C'est pour cette raison, que nous avons imaginé un procédé de dosage, *uniquement basé sur les phénomènes spectraux, et non pas sur la teinte apparente des liquides.* Nous allons le décrire, et, pour cela, il est nécessaire d'examiner ce qui se passe lorsqu'on examine au spectroscope une solution aqueuse de bleu sous des épaisseurs croissantes.

La liqueur étalon que nous avons employée était à 1 centigramme pour 1000 cent. cubes.

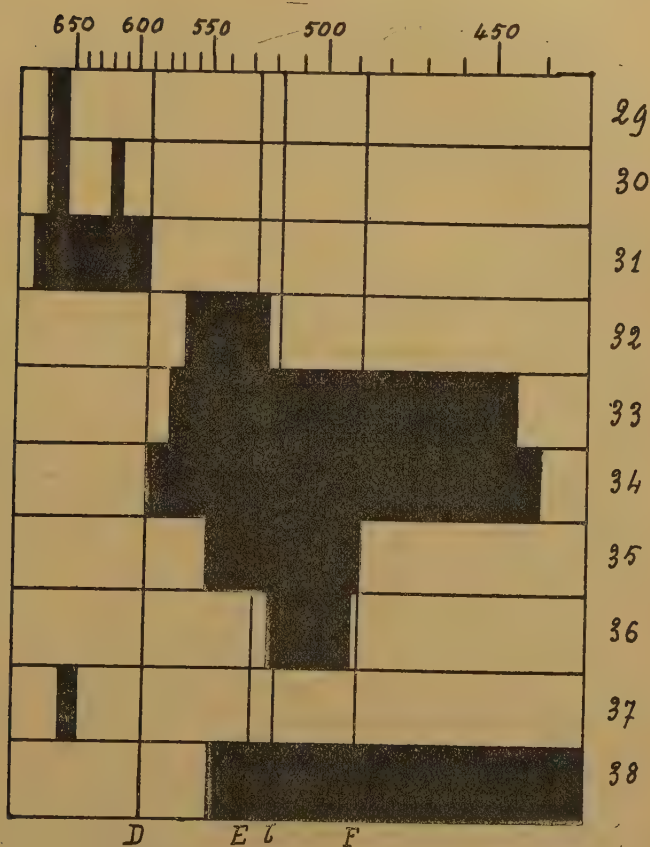
ÉPAISSEUR 3 millimètres : apparition dans le rouge d'une légère bande obscure que nous désignerons B_1 .

4^{mm} : B_1 est très nette et ses limites sont $L = 685,5$ et $L = 666$ (1).

6^{mm} : B_1 devient plus sombre.

(2) Voir PLANCHE IV. N° 29,

PLANCHE IV. — 10 SPECTRES



- Légende : 29. — Bleu de Méthylène à 1cg. p. 1000. — Epais. 4^{mm}
 30. — — — — — 9^{mm}
 31. — — — — — 31^{mm}
 32. — Rosaniline Trisulf. à 10cg. p. 1000. — Epais. 5^{mm}
 33. — — — — — 14^{mm}
 34. — — — — — 28^{mm}
 35. — Coloration des urines par Pyramidon.
 36. — Réaction de Pettenkofer sur Phénol.
 37. — Naphtol et chloroforme + Potasse + Acide et alcool amylique.
 38. — Acide chrysophanique + Ammoniaque (Parmentier).

- 7^{mm} : L'on constate l'apparition d'une 2^e bande B₂ dans l'orangé : elle est encore peu visible.
- 9^{mm} : B₁ s'élargit entre L = 686 et L = 666
B₂ a pour limites L = 621,5 et L = 612 (1)
- 12^{mm} : Limites de B₁ L = 686 et L = 666
» » B₂ L = 629,2 et L = 609
- 15^{mm} : » » B₁ L = 686 et L = 660,5
» » B₂ L = 630,1 et L = 606
- L'on voit que les bords intérieurs des deux bandes se rapprochent : en même temps, B₁ s'étend du côté du rouge extrême.
- 17^{mm} : B₂ est alors très sombre,
- 21^{mm} : Limites de B₁ L = 688 et L = 655,2
» » B₂ L = 634 et L = 598
- 24^{mm} : La pénombre commence à envahir l'intervalle des 2 bandes.
- 29^{mm} : La pénombre s'assombrit et à ce moment les longueurs d'onde respectives des bords sont, pour B₁ L = 694 et L = 653
pour B₂ L = 650,5 et L = 595,5
- 30^{mm} : B₁ et B₂ sont presque réunies. Une faible lueur rouge très étroite perce encore dans leur intervalle.
- 31^{mm} : LES 2 BANDES SONT RÉUNIES ET FORMENT UN SEUL BLOC SOMBRE QUI A POUR LIMITES L = 705 ET L = 592 (2).

Le spectre est désormais réduit à une seule bande B, qui se comporte comme il suit :

(1) Voir PLANCHE IV. N° 30.

(2) Voir PLANCHE IV. N° 31.

35 ^{mm}	:	Limites de B	:	L = 705	à	L = 589
40 ^{mm}	:	»	:	L = 705,2	à	L = 587,5
50 ^{mm}	:	»	:	L = 708,5	à	L = 582,6
60 ^{mm}	:	»	:	L = 709,8	à	L = 575,3
90 ^{mm}	:	»	:	L = 711,3	à	L = 560,2
110 ^{mm}	:	»	:	L = 715	à	L = 549

Pour de plus grandes épaisseurs, les deux extrémités du spectre lumineux s'éteignent progressivement :

Donc, pour une épaisseur de 31^{mm}, notre solution présente le phénomène de la réunion en une seule des 2 bandes caractéristiques.

Avec une dissolution à 1/2 centigramme pour 1000, ce fait s'est manifesté lorsque nous avons l'épaisseur de 62^{mm}2.

Une liqueur à 2 centigr. pour 1000 nous a montré la réunion des bandes à 15^{mm}.

Nous avons expérimenté avec des solutions de titres divers et nous avons toujours constaté la proportionnalité entre la dilution et l'épaisseur, pour l'obtention d'une bande unique. Ce phénomène peut donc servir de point fixe pour un dosage. Il suffit de rechercher l'épaisseur d'une solution quelconque, où se produit la réunion des bandes ; une proportion donne alors le nombre de centigrammes contenus dans 1000^{cc}. Appelons C ce nombre, E l'épaisseur notée, l'on a :

$$\frac{1}{C} = \frac{E}{31}$$

d'où $C = \frac{31}{E}$

N. B. — Il est bon de déterminer la constante 31 pour le dispositif dont on se sert.

Les résultats obtenus sont identiques, qu'il s'agisse d'une solution aqueuse ou d'une urine contenant du bleu. Nous ajouterons enfin que, après nombre d'expériences comparatives faites avec des dissolutions de titres connus, notre procédé s'est montré d'une précision supérieure à celle atteinte par les méthodes colorimétriques directes.

Dans le cas des expériences sur la perméabilité rénale, l'urine se montrant à certains moments très peu teintée en bleu, il nous semble utile, lorsque la coloration est très faible, d'isoler la substance colorante. Voici le procédé que nous conseillons : un volume donné d'urine est mélangé avec une égale quantité de chlorure de sodium en cristaux, et placé dans une éprouvette bouchée à l'émeri. L'on agite énergiquement de façon à émulsionner la masse. Le bleu se précipite. L'on jette le tout sur un filtre. Si le liquide passe encore coloré, ce qui est rare, on lui fait subir une deuxième fois le même traitement. La masse du chlorure est alors traitée sur le filtre par très peu d'alcool concentré et bouillant, qui s'empare du bleu.

En résumé, les expériences seront ainsi conduites : Les urines seront recueillies une demi-heure après l'injection, puis de 3 heures en 3 heures à partir de l'apparition du bleu. Chaque prise sera mesurée exactement et divisée en 2 moitiés, dont l'une sera directement traitée par le chlorure de sodium, puis par l'alcool pour la recherche du bleu éliminé en nature ; l'autre moitié sera additionnée d'acide acétique, puis portée à l'ébullition. Chacun des liquides obtenus sera porté successivement dans la cuve à

épaisseur variable et le phénomène de la réunion des bandes obtenu. La relation établie précédemment indiquera le nombre de centigrammes pour 1000 : il sera alors facile d'établir la quantité de matière colorante contenue dans le volume d'urine expérimenté. La différence des 2 chiffres obtenus à chaque essai indiquera la proportion du chromogène :

Neus avons appliqué ce procédé dans plusieurs cas :

Voici, d'abord, deux expériences concernant des sujets sains. Les résultats furent peu différents ; nous en indiquons la moyenne.

BLEU + CHROMOGÈNE au bout de :

1/2 heure	—	1 millig. 5
1 »	—	2
4 »	—	6
8 »	—	15
12 »	—	23
18 »	—	25
24 »	—	32
30 »	—	32,5
36 »	—	33
42 »	—	33,5
48 »	—	34
54 »	—	34,5
60 »	—	36
63 »	—	37
65 »	—	37,2

BLEU EN NATURE SEUL au bout de :

1/2 heure	0 millig. 7
1 » —	1
4 » —	2
8 » —	4
12 » —	7,5
18 » —	8,5
24 » —	10
30 » —	10,5
36 » —	11 (<i>faible</i>).
48 » —	11,5
54 » —	12
60 » —	12
63 » —	12
65 » —	12,5

A partir de la 36^e heure, les urines des deux sujets étaient mélangées, pour compenser la plus faible proportion de bleu éliminé et l'on prenait la moyenne.

Ces résultats, on le voit, sont un peu supérieurs à ceux de ACHARD et CASTAIGNE. L'élimination a pu être décelée pendant 65 heures, tandis que ces derniers ne l'avaient constatée que jusqu'à la soixantième heure. La plus grande sensibilité de notre procédé explique ces différences

L'expérience suivante porte sur un cas de maladie de BRIGHT terminée par la mort : elle fut faite un mois avant l'issue fatale.

BLEU + CHROMOGÈNE au bout de :

2 heures	—	0 millig. 5
6 »	—	4
12 »	—	8
18 »	—	12
30 »	—	15
36 »	—	15,5
42 »	—	17
54 »	—	17,5
65 »	—	18,7
78 »	—	20,5
90 »	—	21

BLEU SEUL en nature au bout de :

2 heures	—	0 milligr., 4
6 »	—	1,8
12 »	—	3
18 »	—	4,5
30 »	—	6
36 »	—	6,5
42 »	—	7
54 »	—	7,5
65 »	—	8,2
78 »	—	8,5
90 »	—	9,5

Nous n'avons pas suivi l'expérience plus loin ; mais deux litres d'urine émis dans la suite portaient encore des traces de matière colorante.

Les deux premières expériences montrent que, chez l'individu sain, la quantité de bleu éliminé en nature n'est que le tiers de la matière colorante excrétée. Chez notre brightique, par contre, la proportion était de $1/2$. Cette différence dans les deux rapports est-elle constante ? C'est ce que de nouveaux essais pourraient peut-être établir.

Nous avons également examiné l'élimination urinaire du bleu après ingestion par nous de 5 centigrammes de matière colorante. Les résultats furent différents. Le bleu de méthylène ne fit son apparition, qu'environ 2 heures après l'absorption et son élimination fut constatée jusqu'à la 55^e heure. La quantité totale éliminée fut plus faible qu'après injection et n'atteignit que 31 milligrammes.

B. — *Rosaniline trisulfonate de soude.*

Cette matière colorante, identique à la *fuschine acide*, est également connue sous le nom de *Rubine S*. Son élimination provoquée, peut, au même titre que le bleu de méthylène, nous renseigner sur l'état du rein, en tant que filtre. Il importe donc d'avoir un procédé de dosage précis et commode qui permette de déterminer fréquemment les quantités de matière colorante excrétée. Laissant de côté les méthodes colorimétriques par comparaison, nous nous sommes appliqué à la recherche d'un procédé de dosage spectral, et les phénomènes d'absorption, très nets et très constants nous ont permis de réussir.

Si nous examinons une solution aqueuse de rosaniline trisulfonate de soude, nous voyons que son

spectre est essentiellement constitué par une bande obscure dans le *vert*, dont les dimensions varient avec la dilution ou l'épaisseur considérée. Notre solution type est à 10 centigr. de matière colorante pour un volume de 1000 cc. Expérimentons avec des épaisseurs croissantes dans la cuve à variations :

- 4^{mm} : Légère obscurité vers $L = 550$.
 3^{mm} : La bande B est bien noire ; ses limites sont $L = 564$ et $L = 528,5$; le *rouge-extrême* est absorbé.
 5^{mm} : Limites de B : $L = 566$ et $L = 520$ (1). On constate à droite de B l'apparition d'une zone de pénombre vers le *bleu*.
 8^{mm} : B s'étend de $L = 568,5$ à $L = 518,5$ et les limites apparentes de la pénombre sont $L = 518,5$ et $L = 490$.
 9^{mm} : Ombre et pénombre forment maintenant un seul bloc bien sombre s'étendant de $L = 570$ à $L = 475,3$.
 10^{mm} : Limites de la Bande, $L = 572,5$ et $L = 455,5$.
 11^{mm} : » » » $L = 576$ et $L = 446,2$.
 13^{mm} : » » » $L = 578$ et $L = 444$.
 14^{mm} : DISPARITION COMPLÈTE DU VERT A GAUCHE et de tout le spectre à droite sauf une mince bande *violet* (2).
 21^{mm} : Limites de B : $L = 585$ à $L = 440$.
 28^{mm} : LE BORD GAUCHE DE LA BANDE AFFLEURE A LA DIVISION 60 DU MICROMÈTRE, CORRESPONDANT A $L = 588,5$. REMARQUONS QUE CETTE POSITION EST IDEN-

(1) Voir PLANCHE IV, n° 32.

(2) Voir PLANCHE IV. N° 33.

TIQUEMENT CELLE DE LA PLUS RÉFRANGIBLE DES DEUX RAIES JAUNES DU SPECTRE DU SODIUM (D) DE FRAUNHOFER (1).

Pour des épaisseurs plus considérables, le *jaune* et l'*orangé* sont absorbés à leur tour, et il ne reste finalement de visible qu'une bande lumineuse dans le *rouge* (*maximum d'effet spectral*).

Les deux phénomènes, dont la description est soulignée, sont très nets. Nous remarquons que le second se produit pour une épaisseur exactement *double*. Si nous prenons une solution trois fois plus faible, ces aspects sont observés pour des épaisseurs triples et cette proportionnalité est absolument constante, ce qui est très important au point de vue du dosage.

D'autre part, nous avons ici une vérification toute simple ; le 2^e point de repère venant confirmer le 1^{er}. Comme pour le bleu de méthylène les résultats seront :

Pour la disparition totale du vert à gauche $C = \frac{140}{E}$

Pour l'affleurement à L = 588,5 $C = \frac{280}{E}$

Les deux nombres obtenus seront très voisins, si l'expérience est bien conduite : on en prendra la moyenne.

Passons maintenant au côté physiologique de la question. La rosaniline trisulfonate de soude s'élimine par l'urine presque entièrement à l'état de chromogène incolore : l'urine n'est en général que

(1) Voir PLANCHE IV, n° 34.

faiblement teintée, et, souvent, sans la moindre trace de rose. L'ébullition, après forte acidification par l'acide acétique cristallisable, fait apparaître la matière colorante. Nous n'oublierons donc pas cette précaution indispensable. La quantité à injecter est de 40 centigrammes en solution aqueuse. La marche de l'élimination fut constatée par nous, ainsi qu'il suit sur deux personnes en parfaite santé et sur le brightique dont nous avons parlé à propos du bleu.

1^{er} CAS

MATIÈRE COLORANTE ÉLIMINÉE au bout de :

1/2 heure	2 milligr., 5
1 » » 3	
4 heures	— 10,2
8 »	— 20,5
18 »	— 32,3
24 »	— 42,5
30 »	— 44
36 »	— 45,3
42 »	— 46
48 »	— 50
54 »	— 56
60 »	— 59
70 »	— 60,5

2^e CAS

1 heure	— 3,5
4 »	— 11
8 »	— 23,5
12 »	— 27
24 »	— 44

36	»	—	47,5
58	»	—	54
54	»	—	57
60	»	—	61,5
72	»	—	63,5

3^e CAS. — MAL DE BRIGHT

3 heures	—	1
6	»	6,5
12	»	9
18	»	9,2
24	»	18,5
36	»	28
54	»	29,5
66	»	36,5
72	»	37,5
88	»	39,5

Dans la première expérience faite sur nous-même, l'élimination se poursuivit dans la 70^e heure, mais à l'état de traces. Il en fut tout différent pour le second cas : les urines de 24 heures postérieures à la 72^e heure ne donnèrent pas de bande spectrale, même pour une épaisseur de 130 millimètres. Quant au *brigthique*, il continua son élimination après la 88^e heure ; mais nous ne pûmes continuer plus loin les dosages. La dernière expérience est intéressante, en ce sens que l'élimination ne se fit pas d'une manière continue, mais procéda par poussées successives.

Les résultats concordent bien avec ceux du bleu de méthylène, mais le pourcentage de la matière

colorante excrétée totale est plus faible dans le cas de la rosaniline trisulfonate de soude : une notable partie de cette dernière doit s'éliminer par le tube digestif.

CHAPITRE XII

Sur un nouvel appareil pour l'analyse quantitative des substances colorées.

SENSITO-COLORIMÈTRE DE H. PARMENTIER

L'appareil que nous avons imaginé et que nous allons présenter, n'est pas basé sur les observations du spectre. Il trouve cependant sa place dans un travail, où il est constamment question de matières colorées. A la suite d'expériences dont il est inutile de rappeler le détail, nous avons constaté qu'un papier photographique, sensibilisé aux sels d'argent, est beaucoup plus sensible que l'œil aux différences d'intensité lumineuse. D'autre part, l'œil n'est pas un organe toujours semblable à lui-même, et sa finesse d'observation varie avec beaucoup de circonstances : fatigue, lumière trop intense ou trop faible, etc. Nous avons donc pensé qu'un procédé de dosage, en quelque sorte *automatique*, offrirait de sérieux avantages. Ce sont bien encore des teintes que nous allons comparer sur le papier photographique, mais l'expérience nous a montré que l'œil apprécie mieux les variations que nous allons considérer, que les intensités variables de teintes vives.

Exposons d'abord le principe sur lequel nous sommes basé. Supposons deux cuves de même épaisseur, à faces parallèles, et remplies toutes deux d'une solution de matière colorante à même concentration. Plaçons derrière ces cuves un papier sensible, et exposons le tout aux rayons solaires. Le papier va s'impressionner et, au bout d'un certain temps, si l'éclairage des deux cuves est bien le même, nous constatons que les deux papiers ont pris une même teinte. Variions les conditions de l'expérience. Nous plaçons la solution colorée dont on veut déterminer le titre dans une cuve de verre à faces bien parallèles et d'épaisseur intérieure bien connue, soit 4 millimètres. A côté de ce récipient, nous plaçons une cuve prismatique rectangulaire, portant une graduation. A chaque chiffre de cette graduation correspond une épaisseur connue de liquide. Dans ce prisme nous versons une solution de titre connu de la matière colorante en question et, derrière les deux cuves, se trouve appliqué un papier photographique. Nous exposons à la lumière solaire. La couche sensible posée derrière le prisme va s'impressionner et la région la moins foncée de la teinte correspondra à la plus grande épaisseur de liquide interposée. Nous aurons donc, juxtaposées, différentes teintes sombres, qui correspondront chacune à une épaisseur différente. Comparons maintenant la teinte obtenue derrière la cuve de 4 millim. avec la série de tons qui s'échelonnent derrière la cuve prismatique. Nous voyons que l'un de ces tons est identique avec la teinte précédente. Supposons que ce fait arrive pour la division indiquant une épaisseur de 8 millimètres. Nous

sommes fondé à croire que les 8 millim. de la solution étalon interceptent la même quantité de lumière que 4 millimètres de la liqueur à déterminer, et que, par suite, la solution X est à une concentration deux fois plus forte que la dilution type. L'expérience vérifie ce fait : c'est ce que nous avons longuement examiné. Nous appuyant sur ces constatations, nous avons fait construire un appareil, que nous avons dénommé « SENSITO-COLORIMÈTRE H. PARMENTIER ». Nous allons en donner la description. Sur un bâti vertical, se trouve fixée une cuve prismatique rectangulaire. Les côtés de l'angle droit mesurent respectivement 7 et 3 centimètres. La hauteur est de 3 centimètres. La cuve est obturée par une plaque de verre à joint de caoutchouc, maintenue par un système à ressort. Cette fermeture est indispensable, surtout lorsqu'il s'agit de liquides volatils. Le côté opposé à l'hypoténuse porte une graduation en millimètres. Les traits et les chiffres se reproduisent en blanc sur le papier sensible. Chaque chiffre de la graduation est à l'épaisseur de liquide comme 2 est à 1. La division 6 millim. correspond à une épaisseur de 3 millimètres. A côté de cette cuve, se trouve une autre cuve à faces parallèles, de 4 millimètres de distance entre les 2 faces intérieures. La fermeture est identique. Les deux récipients sont enclavés et précédés par une sorte de cheminée destinée à concentrer la lumière solaire ; deux chicanes rectangulaires déterminent le parallélisme des rayons. En avant, deux miroirs inclinés convenablement réfléchissent les rayons lumineux. Derrière les deux cuves, se trouvent appliquée, par un châssis-presse, une même bande de papier sen-

sible ; le papier au citrate d'argent de LUMIERE convient très bien.

L'appareil est monté avec vis calantes et niveau. Passons maintenant à l'application : Les deux cuves sont enlevées et l'appareil tourné vers le jour ; les miroirs sont orientés de façon à obtenir un éclairage uniforme sur les orifices indiquant la place des cuves. Ceci obtenu, l'on remplit le prisme avec la solution de titre connu, et l'autre cuve avec la solution de concentration X. Les deux récipients sont obturés par leurs couvercles et mis en place. Derrière eux, l'on applique le papier, puis le châssis-pressé. Au bout d'un certain temps, variant avec l'intensité de la lumière, l'on retire le papier photographique. Il est bon d'examiner ce dernier à faible lumière. L'on cherche alors à identifier la bande 2 (1) avec une des régions de la bande 1. L'on note le numéro de la graduation où se produit le phénomène. Un calcul fort simple suffit alors pour donner le titre de la solution inconnue. Appelons C le nombre de centigrammes de matière colorante contenus dans un litre de la solution étalon, X le nombre à déterminer pour la solution inconnue, E l'épaisseur à laquelle correspond l'égalité de teinte. (Nous savons que E est égal à la moitié du nombre de la graduation)

Nous pouvons alors poser la relation suivante :

$$\frac{X}{C} = \frac{C}{4}$$

(1) Bande 1 désigne la région impressionnée qui se trouve derrière la cuve prismatique et bande 2 celle qui se trouve derrière la cuve à épaisseur constante.

Nous savons que la cuve à faces parallèles a 4mm d'épaisseur.

$$\text{On tire } X = \frac{EC}{4}.$$

REMARQUES. — Il est évidemment indispensable de ne comparer que des solutions dont les titres sont en rapport convenable avec les dimensions de la cuve prismatique. Si la solution X était par trop concentrée on l'amènerait à une dilution convenable avant de l'introduire dans la cuve à faces parallèles. Une simple multiplication permettrait ensuite de revenir au chiffre réel.

Il est non moins nécessaire de poser derrière les deux cuves la même feuille de papier sensible.

Enfin nous recommandons de ne pas attendre la production de teintes trop sombres de la couche impressionnée ; les variations de tons sont alors moins visibles.

Nous avons expérimenté notre appareil avec les solutions colorées les plus diverses. Les résultats ont toujours concordé avec ceux de l'analyse spectrale et de l'analyse pondérale, et se sont montrés supérieurs à ceux obtenus par les procédés colorimétriques ordinaires. Cette méthode nous a servi de comparaison dans les dosages de bleu de méthylène, de fuschine acide, d'indigotine, etc..., etc... Nous pensons donc qu'elle peut rendre des services sérieux par le peu de surveillance qu'en exige l'application, par la sensibilité de la méthode, et par le fait que les produits mis en œuvre restent inaltérés. Pour des analyses multiples, l'on pourrait construire

un appareil semblable, comportant plusieurs cuves à faces parallèles. Plusieurs dosages d'une même substance pourraient ainsi se faire simultanément, et dans un *temps égal à celui d'une seule détermination*.

Pour les raisons énoncées plus haut, nous considérons ce procédé comme devant être appliqué à l'urobiline plutôt que de rechercher l'épaisseur à laquelle se produit l'apparition de la bande caractéristique.

1. — *Dosage de l'urobiline par le sensitométrimètre.*

L'urobiline est extraite de l'urine par le procédé de préparation que nous avons indiqué, et le résidu de l'extraction est dissous dans une faible quantité d'alcool exactement mesurée. La mise prismatique peut être remplie avec une solution d'urobiline de titre connu ; mais les solutions d'urobiline s'altérant à la longue, il nous a semblé utile de chercher un corps présentant une coloration analogue, plus facile à se procurer, et d'un prix de revient moins élevé.

Notre choix s'est arrêté à *l'acide picramique*, produit de réduction de l'acide picrique.

Ce corps, obtenu à l'état pur est bien privé d'humidité par un séjour de 24 heures dans un dessiccateur à acide sulfurique. L'on en pèse une certaine quantité qui, dissoute, à un titre connu, se conserve bien dans des flacons en verre jaune bien remplis,

2. — *Dosage du bleu de méthylène par le Sensito-colorimètre*

Lorsqu'il s'agit de doser le bleu dans l'étude de la perméabilité rénale, la solution étalon qui convient le mieux est une solution aqueuse contenant 1 ou 2 centigrammes de matière colorante par litre.

Pour faire le dosage, il convient d'isoler préalablement le bleu par précipitation au moyen du chlorure de sodium.

Pour un simple essai clinique, l'on peut se contenter d'opérer directement sur l'urine, lorsque celle-ci ne contient pas de pigments pathologiques sanguins ou autres.

Il est bien évident qu'il est utile de posséder des solutions étalon de diverses concentrations, pour pouvoir se trouver toujours dans les limites permises par notre appareil. C'est un petit problème facile à résoudre pour les différents cas qui peuvent se présenter.

Limites en longueurs d'onde des diverses radiations.

ROUGE-EXTRÊME :	de $L = 762$ à $L = 720$
ROUGE :	de $L = 720$ à $L = 660$
ORANGÉ :	de $L = 660$ à $L = 589$
JAUNE :	de $L = 589$ à $L = 526$
VERT :	de $L = 526$ à $L = 516$
BLEU ET INDIGO :	de $L = 516$ à $L = 430$
VIOLET :	de $L = 430$ à $L = 400$
ULTRA-VIOLET :	de $L = 400$ à $L = 390$

Position en longueurs d'onde des raies de Fraunhofer

A =	760
a =	718,45
B =	687
C =	656,18
D =	589,2
E =	526,90
b =	516
F =	486,06
G =	430,72
H =	396,80

CONCLUSIONS

1° Le spectroscope permet de déceler dans les urines normales les métaux suivants : *sodium, potassium, calcium, magnésium, lithium*.

2° Accidentellement : *mercure, zinc, strontium, lithium*.

3° Il est nécessaire d'observer les spectres d'absorption avec des épaisseurs de liquide croissantes ; un seul résultat n'est pas caractéristique.

4° L'isolement des pigments urinaires doit être fait au moyen de réactifs très peu énergiques.

5° Nombre de pigments considérés comme normaux ne sont que des altérations de l'*urobiline* ou des *mélanges* des substances pigmentaires.

6° Il en est ainsi de l'*urochrome, uroérythrine, urospectrine, uromélanine, uriane, omicholine, uroroséine, pigment de Giacosa, urocyanine*.

7° Notre procédé de préparation de l'*urobiline* donne un pigment offrant bien les caractères les plus nets de cette matière colorante.

8° L'urine normale contient deux pigments : l'*UROBILINE* et un peu d'*HÉMATOPORPHYRINE* ; et deux chromogènes, l'*UROBILINOGENE* et l'*INDOXYLE*.

9° L'*urobiline* dite « *fébrile* » est identique à l'*urobiline normale*.

10° L'INDIGOTINE-INDIRUBINE peut être extraite de toute urine.

11° Notre procédé de recherche de l'urohématoporphyrine, dérivé de celui de HAMMARSTEN nous permet de retirer ce pigment de toute urine normale, en agissant sur un fort volume. Nous rapprochons nos procédés de ceux donnés par les différents auteurs pour la recherche des pigments urinaires.

12° La bilirubine provient de l'oxyhémoglobine par deux processus simultanés, l'un passant par l'hématine et l'autre par l'acide glycocholique et l'acide acétique : ce dernier processus donne aussi de l'urobiline.

13° Les origines de l'urobiline sont donc doubles.

14° L'urobilinurie apparaît dans les affections qui augmentent la *suractivité fonctionnelle* du foie. Par contre, l'urobiline diminue dans les maladies par *ralentissement de la nutrition*.

15° La bilirubinurie est toujours accompagnée d'hématoporphyrinurie.

16° Le régime azoté, le surmenage, les fermentations intestinales anormales, les infections augmentent l'indoxyle.

17° Les caractères spectraux de la réaction du *biuret* sur l'urée, les albumines, les peptones permettent de différencier ces corps. La réaction de GMELIN permet de différencier les différents stades d'oxydation de la bilirubine.

18° Les caractères spectraux de la réaction de PETTENKOFFER sur *acides biliaires, albumine, phénol* permettent de différencier des corps donnant même réaction colorée.

19° *L'acide picrique* paraît s'éliminer en acide *picramique*.

20° Le spectre caractérise nettement les urines contenant *phénol*, *naphtol*, *copahu*, *acide chrysophanique*, etc.

21° Notre procédé de dosage spectral du *bleu de méthylène* et de la *Rosaniline trésulfonate de soude* permet d'obtenir des résultats précis dans l'analyse de ces matières colorantes.

22° Nous avons imaginé un procédé et un appareil nouveaux permettant de doser, pour ainsi dire « *automatiquement* », les matières colorantes les plus diverses.

23° Notre appareil, fondé sur les différentes teintes d'impression d'un papier photographique, a été dénommé par nous : « *SENSITO-COLORIMÈTRE* ».

Vu : le Président de la Thèse,
POUCHET.

Vu : le Doyen,
M. DEBOVE

Vu et permis d'imprimer :
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
L. LIARD.

BIBLIOGRAPHIE

Pour ceux qui s'occupent de recherches spectrales, il est peu d'ouvrages aussi précieux que le suivant :

Index to the Literature of the Spectroscope, by **Alfred Tuckermann** (*Smithsonian miscellaneous collections*). — *Washington*. (Published by the *Smithsonian institution*). 2 tomes, l'un paru en 1888 et l'autre en 1902. — Ce répertoire, très volumineux, contient l'indication de la plupart des travaux scientifiques ayant trait aux spectres. Peut-être un peu sommaire en ce qui concerne les recherches françaises, il n'en est pas moins un catalogue tout à fait utile.

Blake (J.). — Spectre des substances inorganiques et leur action biologique. *C.-R.*, 1887. 1544-1546.

— — *Soc. Biol.*, 1890.

Boisbaudran (F. Lecoq de). — Spectres lumineux. *Paris*, 1874.

Bremer (H.). — Einfluss der Temperatur gefärbter Lösungen auf die Absorptionsspektren derselben. *Diss. Erlangen*, 1890.

Gautrelet. — Urines, dépôts, sédiments. *Paris*, 1889.

— Technologie de l'Urobiline. *Rev. mal. de la nutrit. Paris*, 1896.

— Dosage et seméiologie de l'uroérythrine. *Rev. mal. de la nutrit.*, 1896.

Saint-Martin. — Spectro-photométrie du sang. *Paris*, 1898.

Vieillard (C.). — Analyse des urines. *Paris*, 1898.

Vogel. — Praktische spectralanalyse irdischer Stoffe. *Berlin*, 1888.

Stokwis. — Das Gmelins'sche oxydation der Gallen Farbstoffe. — *Centralblatt für die médiz. Wissenschaft*, 1872.

Landois. — Traité de physiologie.

Dastre et Floresco. — Les matières colorantes du foie et de la bile. *Paris*.

Fumouze. — Les spectres d'absorption du sang. *Paris*, 1870.

Garrod. — Hæmatoporphyrin in normalen Harn. 1895.

Würtz (Dictionn. de chim. de). — Article *Urines*.

Studenski. — Zur Frage der quantitative Bestimmung der Urobilin in Harn. *St-Petersburger Wochens*, 1893.

G. Pouchet et Lewin. — Traité de toxicologie. *Paris*.

G. Pouchet. — Leçons de Pharmacodynamie. *Paris*, 1900.

Hopp Seyler. — Ueber die chemischen Eigenschaften des Blutfarbstoffes. *Virchow's Archiv*, VIII. p. 446.

Sorby — On a definite method of qualit. anal. of animal and colouring matters by means of the spectrum. *Royal Soc. London*, 1867, xv, 433.

Gangée. — Researches on the blood. *Roy. Soc. London*, 1868.

Demarçay (E.). — Spectres électriques. *Paris*, 1895.

Dittrich (R.). — Das Spectrum des Methamoglobins. *Zeit. anal. Chem.* 1892, p. 593.

Harris (D. F.). — Some contributions to the spectrum of Haemoglobin and its derivatives. *Proc. Roy. Soc. Edinburg*, 1898, 187-208.

Hübl (A.). — Absorptionsband und Farbe der Pigmente. *Jahb. d. Photogr.*, 1897, 56-59.

Hüfner (G.). — Lehre für die Spectroscopie des Blutes. *Archiv. f. Physiol.*, 1890, 28-30.

Kayser (H.) und Runge (C.). — Handbuch der Spectroscopie. *Leipsig*, 1900.

Krueger (F.). — Absorptionverhältniss des oxyhaemoglobins. *Zeit. f. Biol.* 1888, 47.

Landauer (J.). — Die Spectralanalyse. *Braunschweig*, 1896.

Lapraik (W.). Die Absorptionsspectra einiger Chromverbindungen. *J. prakt. chem.*, 1893.

Salet (G.). — Traité d'analyse spectrale. *Paris*, 1895.

Beaume. — Essai de spectroscopie de l'urine dans divers états pathologiques. *Paris*, 1879.

Winter. — Recherche de l'urobiline dans la bile. *Soc. Biol.*, 1889.

Thierry (M. de). — Hématospectroscope. *C. R.*, 1885.

Petitpas. — De l'Indicanurie. *Paris*, 1896.

- Saillet.** — L'hématoporphyrine, matière colorante normale de l'urine. *Bull. de Thérap.*, 1894.
- Schmitt.** — Essai sur les matières colorantes de l'urine normale. *Paris*, 1898.
- Gautrelet.** — Spectroscopie critique des pigments urinaux normaux. *Paris*, 1900.
- Morat et Doyon.** — Traité de Physiologie.
- Jaffé.** — Beiträge zur Kenntniss der Gallen und Harnpigments. *Centralblatt für die Medizin*, 1872.
- Hénocque.** — Spectroscopie biologique. 3 volumes *Léauté*.
- Hénocque.** — Analyseur chromatique. *Soc. de Biol.*, 1892.
- Dechambre.** — Dictionnaire encyclopédique.
- A. Gautier.** — Traité de chimie biologique.
- Mac Münn.** — The spectroscope in Médecine. *Philadelphie*, 1880.
- Bertin-Sans.** — Sur la Méthémoglobine. *Paris*, 1888.
- Brouardel.** — Action physiologique de la Kairine. *Soc. Biol.*, 1814.
- Gorup-Besanez.** — Traité de chimie physiologique. *Paris*, 1889.
- Bogomoloff.** — Ueber die spectral Eigenschaften der Gmelin'schen Reaction. *Centralblatt*, 1869, p. 529, 530.
- Maly.** — Untersuchungen über die Gallenfarbestoffe. *Ann. chim. et Pharm.* CLXXV, 1874.
- Thudichum.** — Further researches on bilirubin and its compounds. *Chem. Society*, 1875.
- Villejean.** — Pigments animaux. *Paris, Thèse Agrég.*, 1885.
- Lefèvre.** — Spectroscopie. *Paris* 2 vol. *Léauté*.
- L. Zoja.** — Su qualche pigmenti de alcun urine e specialmente sulla presenza in esse di ematoporfirina ed uroeritrina. *Arch. Ital. Clin. Med.*, 1893.
- Stokwis.** — Spectre de l'indican. *Chem. Centralbl.* 1871.
- Riva.** — Contribuzione allo studio della uroeritrina. *Gaz. med. Torino*, XLII, 1892.
- Jaquet.** — Préparation de l'oxyhémoglobine. *Bâle*, 1889.
- Rollet.** — Blut und Blutbewegung. *Hermann's Handbuch d. Physiol.* Leipzig, 1887.
- Lewin.** — Recherche de l'hémochromogène. *Centralbl für die médiz. Wiss.*, 1887.

- Lapicque.** — Dosage du fer dans les recherches physiologiques. *Thèse, Paris*, 1895.
- Giacosa.** — Dosage de l'hémoglobine. *Zeit. phys. chem.*, 23, 526.
- Jolyet.** — Colorimétrie de l'hémoglobine. *Gaz. médic. de Paris*, 1877.
- Fleischl (Von).** — Dosage de l'hémoglobine. *Maly's Jahresber.*, 15.
- Bertin-Sans.** — Spectre de la méthémoglobine. *Paris*, 1888.
- Hammarsten.** — Dosage de l'hématoporphyrine. *Skand. Archiv.* 3.
- Huppert.** — Analyse des Harns. *Wiesbaden*, 1898.
- Bunsen.** — Analyse chimique fondée sur les observations du spectre. *Ann. de ch. et phys.* 1862.
- Valentin.** — Der Gebrauch des Spectroskope zu physiol. und aerzlich. Zwecken. *Leipzig.*, 1863.
- Preyer.** — Quantitative Bestimmung des Farbstoffs im Blute durch das Spectrum. *Ann. der ch. und Pha. m.* 1866.
- Balley.** — Des méthodes à suivre pour rechercher le sang. *Thèse, Strasbourg*, 1868.
- Benoît.** — Etudes spectroscopiques sur le sang. *Montpellier*, 1869.
- Branly.** — Dosage de l'hémoglobine dans le sang. *Thèse de Paris*, 1882.
- Hayem.** — Expériences sur les substances toxiques qui altèrent l'hémoglobine. *C-R.*, 1884.
- Vauthrin.** — Dosage de l'hémoglobine par la méthode d'Hénocque. *Thèse de Paris*, 1888.
- Cazeneuve.** — Recherches sur l'hématine. *Paris*, 1876.
- Quinquaud.** — Sur le spectre d'absorption produit par le chlorhydrate de Kairine dans le sang. *Soc. de Biol.* 1884.
- Vierordt.** — Physiolog. spectral Analyse. *Zeitsch. von Pettenkoffer. Münschen.* 1875.
- Kiener et Engel.** — Rapports de l'urobilinurie et de l'ictère. *Soc. de Biol.* 1887.
- Maillard.** — L'indoxyle urinaire. *Paris*, 1903.
- Recherche de l'indoxyle dans les urines. *C-R.* 1903.

- Maillard.** — Nature des couleurs urinaires chloroformiques. *Soc. de Biol.* 1903.
- Constitution des couleurs de l'indigo. *Bull. Soc. chim.* 1903.
- Tissier.** — Pathologie de la sécrétion biliaire. *Th. de Paris.* 1889.
- Labadie-Lagrave.** — Urologie clinique et maladies des reins. *Paris*, 1888.
- Méhu.** — L'urine. *Paris*, 1880.
- Salkowski et Leube.** — Die Lehre von Harn. *Berlin* 1882.
- Neubauer et Vogel.** — Anleitung qualitativen quantitativen Analyse des Harns. 1881.
- Amann.** — Recherche de l'indican dans l'urine. *Revue. médic. de la Suisse romande*, 1897.
- Bogomoloff.** — Die Methoden der quantitativen Bestimmung des Urobilines im Harn. *Deutsch. Mediz. Wochensc.* 1892.
- Disqué.** — Ueber Urobilin. *Zeitsch. für phys. chem.* 1878.
- A. Garrod.** — A contribution of the study of uroerythrine. *Journ. of physiol.*
- Lenobel.** — Urohématoporphyrine. *Pflug Archiv.* 1887.
- Mac Munn.** — Hématoporphyrin. *Journ. of Physiol.* 1890.
- Quincke.** — Eigenthümlicher Farbestoff im Harn. *Berlin Wochensc.*, 1892.
- Rosin.** — Urorosein und sein Chromogen. *Deutsch. Mediz. Woch.*, 1893.
- Thudichum.** — Uroerythrin. *Journ. of the Chem. Soc.* 1873.
- Viglezio.** — Sulla patogenesi dell' Urobilinurie. *Lo Sperimentale*, 1891.
- Zoja.** — Ueber Uroerythrin und Hématoporphyrin im Harn. *Centralblatt für Méd. Wiss.*, 1892.
- Van Lair.** — Stercobiline. *Centralb für Méd. Wiss.*, 1871.
- Abel.** — Bemerkung über die thierischen Melanin und Hämoxidin. *Vi chow's Archiv.*, 1890.
- Carnot.** — Recherches sur le mécanisme de la pigmentation. *Thèse de Sciences. Paris*, 1896.
- Hénocque.** — Hématospectroscopes. *C.-R.*, 1886.
- M. Jaffé.** — Über die Fluorescenz des Harnfarbstoffs. *Centralb. für die méd. Wissens.*, 1869.
- Burlureaux.** — La production des urines noires dans le traitement de la tuberculose par la créosote. *Soc. médic. des hôpit.*, 1897.

- Cotton**. — L'urocyanine. *Bullet. pharm. de Lyon*, 1896.
- Denigès**. — Dosage de l'urobilline. *Soc. biol.*, 1897.
- Harley**. — The urine and its derangements. *Philadelphie*, 1872.
- Jaffé**. — A manual of chemical physiology, 1872.
- Laache**. — Analyse des urines, 1885.
- Laval**. — Urobilinurie par contusion du foie. *Acad. Médic.*, 1897.
- Mac-Munn**. — The spectroscope in medicin, 1880.
- Bruger**. — Augmentation de l'indigène par absorption d'indol. *cité par Hugouneug*.
- Dastre et Floresco**. — Deux nouveaux pigments biliaires. *Archiv. de physiol.*, 1897.
- Linossier**. — Appareil pour le dosage des matières colorantes de l'urine. *Lyon médical*, 1897.
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.....	I-II
-------------------	------

CHAPITRE PREMIER

A. — GÉNÉRALITÉS. — SPECTRES D'ÉMISSION.....	1
B. — SPECTRES D'ÉMISSION DES URINES NORMALES.....	5
C. — SPECTRES D'ÉMISSION DES MÉTAUX QUI SE TROUVENT ACCIDENTELLEMENT DANS LES URINES.....	9

CHAPITRE II

SPECTRES D'ABSORPTION DE L'URINE NORMALE OBSER- VÉE DIRECTEMENT.....	15
---	----

CHAPITRE III

SPECTROSCOPIE DES COMPOSÉS COLORÉS DES URINES NORMALES.....	19
1. — Urobiline.....	21
2. — Uroérythrine.....	31
3. — Uromélanine.....	33
4. — Parauromélanine.....	35
5. — Urospectrine.....	36
6. — Urochrome.....	39
7. — Uriane.....	41
8. — Pigment rouge de Giacosa.....	42
9. — Purpurine de Golding-Bird.....	43
10. — Urrhodine de Heller.....	43
11. — Uroroséine.....	43
12. — Urocyanine.....	45
13. — Omicholine de Thudichum.....	45

CHAPITRE IV

CHROMOGÈNES DES PIGMENTS URINAIRES.....	47
1. — Urobilinogène.....	47
2. — Urochromo-érythro-roséinogène.....	48
3. — Indoxyle.....	49

CHAPITRE V

SPECTROSCOPIE DES MATIÈRES COLORANTES DES URINES PATHOLOGIQUES.....	61
1. — Pigments biliaires.....	62
2. — Hémoglobine.....	66
3. — Méthémoglobine.....	67
4. — Hématoporphyrine.....	69

CHAPITRE VI

DOSAGE DES MATIÈRES COLORANTES DE L'URINE NORMALE ET PATHOLOGIQUE.....	73
1. — Dosage de l'urobiline.....	73
2. — Dosage de l'urobilinogène.....	78
3. — Dosage de l'urospectrine.....	79
4. — Dosage de l'indoxyle.....	80
5. — Dosage de l'hématoporphyrine.....	82

CHAPITRE VII

EXAMEN CRITIQUE DES RÉSULTATS OBTENUS.....	85
--	----

CHAPITRE VIII

ORIGINE ET SÉMÉIOLOGIE DES PIGMENTS URINAIRES.....	89
1. — Urobiline.....	89
2. — Bilirubinurie.....	97
3. — Hématurie. — Hémoglobinurie.....	98
4. — Méthémoglobinurie.....	100
5. — Hématoporphyrinurie.....	100
6. — Indoxylurie.....	101

TABLE DES MATIÈRES 157

CHAPITRE IX

CARACTÈRES SPECTRAUX DES RÉACTIONS COLORÉES DES COMPOSÉS INCOLORES DE L'URINE.....	103
--	-----

CHAPITRE X

RECHERCHES SPECTRALES SUR LES COLORATIONS ACCIDENTELLES DE L'URINE.....	115
---	-----

CHAPITRE XI

SPECTROSCOPIE DES SUBSTANCES EMPLOYÉES POUR L'ÉTUDE DE LA PÉRMÉABILITÉ RÉNALE.....	121
A. — Bleu de méthylène.....	121
B. — Rosaniline trisulfonate de soude.....	131

CHAPITRE XII

SUR UN NOUVEL APPAREIL POUR LE DOSAGE DES SUBSTANCES COLORÉES. SENSITO-COLORIMÈTRE, H. PARMENTIER.....	137
--	-----

CONCLUSIONS

POSITION EN LONGUEUR D'ONDE DES RAIES DE FRAUENHOFFER.....	144
BIBLIOGRAPHIE	

TABLE DES SCHÉMAS SPECTRAUX

	Pages
PLANCHE I.....	25
1. — Urobiline solut. alcool, acide (Parmentier).	
2. — Urobiline. Ammoniaque. Chlorure de zinc (Parmentier).	
3. — Urobiline alcool, acide (Lefèvre).	
4. — Urobiline procédé Cordier (Parmentier).	
5. — Urobiline, procédé Bogomoloff.	
6. — Urobiline, procédé Jaffé (Parmentier).	
7. — Uroérythrine (Gautrelet)	
8. — Uroérythrine procédé Thudichum (Parmentier).	
PLANCHE II.....	55
9. — Urospectrine sol. alcool, acide (Saillet).	
10. — Urospectrine sol. alcool, acide (Saillet).	
11. — Urospectrine sol. alcaline (Saillet).	
12. — Indigoline (Parmentier).	
13. — Indirubine.	
14. — Réaction de Gmelin. Sol. bleue (Parmentier).	
15. — Réaction de Gmelin. Sol. rouge (Parmentier).	
16. — Oxyhémoglobine.	
17. — Hémoglobine réduite.	
18. — Hématine acide.	
PLANCHE III.....	109
19. — Hématoporphyrine acide (Parmentier).	
20. — Hématoporphyrine alcaline (Parmentier).	
21. — Hématoporphyrine neutre (Parmentier).	
22. — Réaction de Pettenkoffer : acide Tauroc. (Parmentier).	
23. — Réaction de Pettenkoffer : acide glycoch. (Parmentier).	

- 24. — Réaction de Pettenkoffer : acide albumine (Parmentier).
- 25. — Réaction du biuret. Urée (Parmentier).
- 26. — Réaction du biuret. Peptones (Parmentier).
- 27. — Réaction du biuret. Albumine (Parmentier).
- 28. — Urine copahurique chlorhydrique (Parmentier).

PLANCHE IV..... 123

- 29. — Bleu de Méthylène. Epaisseur 4 millimètres (Parmentier).
 - 30. — Bleu de Méthylène. Epaisseur 9 millimètres (Parmentier).
 - 31. — Bleu de Méthylène. Epaisseur 31 millimètres (Parmentier).
 - 32. — Rosaniline trisulf. de soude. Epaisseur 5 millimètres (Parmentier).
 - 33. — Rosaniline trisulf. de soude. Epaisseur 14 millimètres (Parmentier).
 - 34. — Rosiline trisulf. de Soude. Epaisseur 28 millimètres (Parmentier).
 - 35. — Coloration des urines par Pyramidon (Parmentier).
 - 36. — Réaction de Pettenkoffer. Phénol (Parmentier).
 - 37. — Réaction de l'aurine sur Naphtol (Parmentier).
 - 38. — Acide chrysophanique. ammoniacque (Parmentier).
-

Angoulême - Imp. L. Coquemard et Cie

